



Ana Maria Silva de Sousa
Serpa Osório

Tradução crítica de informação ao
consumidor: as bagas na saúde.



Ana Maria Silva de Sousa
Serpa Osório

Tradução crítica de informação ao
consumidor: as bagas na saúde.

Projeto apresentado à Universidade de Aveiro para o cumprimento dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Tradução sob orientação científica da Professora Doutora Maria Teresa Costa Gomes Roberto, Professora Auxiliar do Departamento de Línguas e Culturas da Universidade de Aveiro.

Dedico este trabalho aos meus pais, sobrinhos, irmãs,
professores e amigos.

O Juri

Presidente

Doutora Maria Teresa Murcho Alegre
Professora Auxiliar do Departamento de Línguas e
Culturas da Universidade de Aveiro

Doutora Ana Jorge Balula Pereira Dias,
Professora Adjunta da Escola Superior de
Tecnologia e Gestão de Águeda (arguente)

Doutora Maria Teresa Costa Gomes Roberto
Professora Auxiliar do Departamento de Línguas e
Culturas da Universidade de Aveiro

Agradecimentos

Quero aqui apresentar os meus agradecimentos a todos os que permitiram a concretização deste projeto. À minha orientadora que sempre se mostrou disponível para ajudar a contornar as dificuldades. Aos meus pais, irmãs, cunhados, sobrinhos e namorado porque não me deixaram baixar os braços quando as forças começaram a faltar.

Um agradecimento muito especial a minha irmã Lara que apesar das vicissitudes da vida não deixou de me chamar a Terra quando dela queria fugir.

Palavras chave: Bagas, Frutos Secos, Tradução funcional, Terminologia

Resumo: Vivemos numa época em que o consumo e plantação de bagas se encontra muito em voga, tendo em conta que este consumo pode contribuir para um aumento substancial da qualidade de vida do cidadão. Quando há grandes preocupações com a saúde, todos os produtos que surjam chamam a atenção, pois supõe-se que tragam algo de inovador e perçetivelmente benéfico.

A atividade a desenvolver consistirá numa aplicação de teorias tradutológicas apreendidas ao longo de todo o curso, tendo em atenção o público-alvo, a tipologia textual, o registo discursivo, entre outros. Serão seguidas as orientações metodológicas de Gouadec, no que concerne a tradução funcional, especialmente, na sua dimensão metodológica.

Este projeto académico terá, além da tradução de textos de informação ao consumidor, uma explicação e reflexão crítica sobre todas as etapas da tradução e a elaboração de um glossário bilingue.

Key words: Berries, Nuts, Funcional Translation, Terminology

Abstract: We live in a time when the consumption of berries and their subsequent cultivation is very popular, as this consumption can contribute towards a substantial increase in the quality of life of the people who eat them. When there are concerns with health, all the products that are thought to contribute to this desideratum call our attention, because people think that they bring something new and beneficial.

The purpose of this project in functional translation theories learned during the whole of the Masters programme pays special attention to the target audience, the textual genre, the register of the discourse, and others. Gouadec's guidelines for functional translation will be taken as framework for this translation project, specially where methodology is concerned.

This academic project will be composed not only of the translation of texts in consumer information but also of a critical explanation on the various stages of translation. It also includes a bilingual glossary.

Índice

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. ENQUADRAMENTO DO TRABALHO.....	11
3. PÚBLICO-ALVO	12
4. METODOLOGIA	13
5. FERRAMENTAS UTILIZADAS.....	15
6. REVISÃO.....	17
7. DIFICULDADES E RESPOSTAS PARA AS MESMAS	18
8. GLOSSÁRIO.....	22
9. TRADUÇÃO.....	23
10. CONCLUSÃO.....	26
11. BIBLIOGRAFIA.....	28
12. BIBLIOGRAFIA EM LINHA	29
13. APÊNDICE.....	32
Texto de partida 1	33
Texto de chegada 1	43
Texto de partida 2	55
Texto de chegada 2	63
Texto de partida 3	76
Texto de chegada 3	83
Texto de partida 4	92
Texto de chegada 4	102
Glossário.....	115

1. INTRODUÇÃO

Este projeto é o resultado de quase seis anos de estudos na área da Tradução, tendo esta sido a vertente chave do percurso académico. A passagem pelo mundo da tradução, apesar de superficial, uma vez que ainda não foi sentido no dia a dia do mundo do trabalho, mostrou-se, logo à partida, um desafio, visto não se tratar de uma área propriamente fácil, ao contrário do que muitos pensam. Ao longo desta passagem, desbravaram-se várias etapas que abriram algumas janelas para o como será a vida de uma tradutora estreante daqui para a frente. Durante a licenciatura, e, posteriormente, durante o mestrado, surgiram exercícios de tradução nas mais variadas áreas, tais como jornalismo, publicidade, turismo e saúde, e vários tipos textuais: texto científico, jornalístico, técnico, entre outros. O contacto com estas áreas e tipos textuais proporcionou um leque considerável de ação no vastíssimo mundo da tradução. A autora sentiu uma grande afinidade por todas estas áreas, de modo que a escolha do tema para este Projeto não foi propriamente fácil.

Como tema deste Projeto de Final de Mestrado a escolha teve de recair sobre algo relacionado com as Ciências da Saúde e da Vida, visto ser este o ponto de especialização do mestrado. Deste modo, após alguma pesquisa e seguindo algumas sugestões da orientadora do Projeto, optou-se pelo tema das bagas na saúde, intitulando este projeto de “Tradução Crítica de Informação ao Consumidor: As Bagas na Saúde”.

Este tema foi escolhido por ser bastante atual, visto que, nos dias de hoje, o consumidor comum tem uma grande preocupação com a saúde, em comparação com o que se passava há alguns anos, e, deste modo, todos os produtos que surjam e deem provas de fazerem bem à saúde tornam-se foco de interesse por parte do consumidor. Hoje em dia, veem-se inúmeros anúncios a salientar, por exemplo, as propriedades benéficas dos antioxidantes existentes nas bagas. Este tema, interessou à autora, por um lado enquanto objeto de trabalho académico, e por outro também a nível pessoal porque tendo lutado contra uma obesidade de grau II, tornou-se mais preocupada em levar uma alimentação saudável.

O principal objetivo deste projeto é, por um lado, dar a conhecer alguns benefícios das bagas na saúde, por outro, a criação de um glossário bilingue sobre este tema. A sociedade de hoje em dia encontra-se cada vez mais interessada no consumo de produtos naturais com o intuito de melhorar a sua saúde. Os benefícios de frutos como as bagas ou os frutos secos ainda são desconhecidos para muitos. Através dos textos trabalhados para este projeto, podemos ver os efeitos dos elementos alimentares anteriormente referidos, em melhorias em algumas condicionantes da saúde tais como, tensão arterial, colesterol, entre outras.

O projeto que aqui se apresenta será dividido em vários capítulos:

- | | |
|-------------------------------|-------------------------------------|
| 1) Introdução; | 6) Revisão |
| 2) Enquadramento do trabalho; | 7) Dificuldades e Respostas para as |
| 3) Público-alvo; | mesmas |
| 4) Metodologia; | 8) Glossário |
| 5) Ferramentas utilizadas; | 9) Tradução |

Os quais consistem em:

- 1) Apresentar os conteúdos a encontrar ao longo de todo o trabalho. Neste capítulo é feita uma apresentação dos motivos que levaram à realização deste projeto, o tema do mesmo e motivos da sua escolha.
- 2) Integrar o projeto e sua temática, não apenas como sendo exercício final do Mestrado em Tradução Especializada, mas também como temática pertinente à sociedade dos dias de hoje. É feita também referência a empresas relacionadas com a plantação e qualidade de determinadas bagas.
- 3) Apresentar os públicos-alvo, características dos textos de partida que identificam os públicos-alvo e traços distintivos dos mesmos.
- 4) Dar a conhecer o método de trabalho usado ao longo de todo o projeto através de uma enumeração e reflexão crítica detalhada de todas as etapas realizadas.
- 5) Mencionar as ferramentas de tradução utilizadas, as funções para que foram escolhidas e enumeração de características específicas de cada ferramenta.
- 6) Enumerar as várias características que tornam a revisão numa fase tão importante da tradução e as etapas seguidas no caso específico do presente projeto.
- 7) Especificar as maiores dificuldades encontradas ao longo da tradução realizada e caracterização das respostas encontradas para as ultrapassar.
- 8) Exposição do glossário, estágios ultrapassados para a sua realização e traços característicos do mesmo.
- 9) Definir as características da tradução, tanto a nível pessoal, como tendo por base autores relacionados com o mundo da tradução funcional.

2. ENQUADRAMENTO DO TRABALHO

Sendo o presente projeto, o último exercício do Mestrado em Tradução Especializada em Ciências da Saúde e da Vida, o seu tema teria de estar relacionado com esta área.

Após diálogo com a orientadora do projeto e levadas a cabo várias pesquisas, principalmente na área alimentar, optou-se pelo tema, como já referido “Tradução Crítica de Informação ao Consumidor: As Bagas na Saúde”, que interessou particularmente, pois desde que foi começada a luta da autora contra uma Obesidade de Grau II, surgiu a preocupação em fazer uma dieta equilibrada, e toda a informação que a venha enriquecer o conhecimento sobre esta temática é muito importante, não só para o caso da autora em particular, mas para poder ajudar quem, assim como ela, trava batalhas diárias com doenças que são agravadas ou melhoradas consoante aquilo que comemos.

Mas, felizmente, hoje em dia, nem todas as pessoas esperam por ter alguma doença para se tratarem, o que é fundamental para alcançar uma vida saudável, já há muitas pessoas que se informam do que fazer para melhorar a sua qualidade de vida e assim precaver possíveis doenças. Deste modo, torna-se verdadeiramente necessário, fornecer toda a informação possível ao consumidor sobre como evitar problemas de saúde graves, tais como diabetes, problemas cardíacos.

As questões que relacionam as bagas com a saúde levam a que já se possam encontrar várias associações relacionadas com as mesmas, de forma a dar a conhecer as características das bagas, os seus benefícios e como tirar partido das mesmas. Em Portugal existem pelo menos duas destas associações: a Mirtilusa, sediada em Sever do Vouga, que dá a conhecer os benefícios do Mirtilo, eventos a ele relacionados, produção dos mesmos; a Beirabaga, sediada na região da Cova da Beira, mais propriamente no Fundão. Esta empresa trabalha na plantação de bagas como Framboesas, Amoras e Groselhas e na certificação de qualidade das mesmas.

Deste modo podemos ver, que cada vez há mais pessoas que demonstram preocupação e curiosidade sobre a produção e consumo das bagas, não só a nível de saúde mas também por questões económicas, visto tratarem-se de frutos que se dão bem nas regiões onde estão sediadas as empresas existentes, permitindo-lhes explorar a sua produção, de modo a obter uma melhoria de vida a nível económico. Com os seus perfis biológicos únicos, não é possível o cultivo/plantação das bagas em qualquer lugar, necessitando de cuidados específicos, desde o tipo de terra à água utilizada na rega.

3. PÚBLICO-ALVO

Antes de começar a traduzir qualquer texto, é deveras importante ter em conta a quem ele se destina, pois o mesmo termo ou a mesma expressão podem ser traduzidos de forma diferente consoante a pessoa que irá ler o texto.

Differences in translation can greatly be accounted for by three basic factors in translating: (1) the nature of the message, (2) the purpose or purposes of the author and, by proxy, of the translator, and (3) the type of audience» (Venutti, 2004, p.154).

Os textos trabalhados têm vários públicos-alvo, visto tratarem-se de textos de natureza diferente.

When a translator is faced with a text, he should take into account that the product of his translation is directed at people that come from a background which is different from that of the original target audience. When we talk of different social practices and speaking a different language. (Anelo, 2004, p. 1)

Textos como “Berries: Improving Human Health and Healthy Aging, and Promoting Quality Life – a Review”, ou “Nuts and Berries for Heart Health” são textos de cariz técnico, escritos por e para especialistas. O texto científico caracteriza-se de acordo com Azevedo:

É um texto escrito para ser publicado num periódico especializado e tem o objetivo de comunicar os dados de uma pesquisa, seja ela experimental, quase experimental ou documental. (Azevedo, 2001, p.82)

No presente projeto, encontramos também textos de divulgação científica, que são escritos por especialistas e se caracterizam por uma linguagem simples, de forma a dar a conhecer conhecimentos científicos, e tem como público-alvo todos os interessados no tema abordado. Quando num texto de divulgação científica há um termo mais específico para o público em geral, vem frequentemente acompanhado por uma definição. Exemplo deste tipo textual existente no *Corpus* deste projeto são os textos: *Berries are Good for you; Blueberry*.

Por último, no grupo de textos que constitui o *Corpus* anteriormente referido, há textos jornalísticos que possuem uma linguagem bastante simples que são escritos tanto por especialistas como por curiosos na matéria e são destinados a todo e qualquer indivíduo que se interesse por determinada temática. Exemplo destes textos é: *Gaga over Goji*.

Como se entende que o consumidor será o beneficiário de todo o processo de informação que estes textos encerram, enfatiza-se a receção do consumidor como objetivo primordial deste trabalho.

4. METODOLOGIA

O objetivo principal deste capítulo do Projeto é dar a conhecer o método adotado na realização deste trabalho. A forma mais simples de o expor é descrever todos os passos desenvolvidos ao longo da construção do projeto.

Ao contrário do que poderia ser esperado, não foram adotadas as metodologias de Jenny Williams e Andrew Chesterman que dizem:

You have a preliminary plan, and you are beginning to do some reading and reading and thinking. You begin to take a few notes. The more you write, even if only for yourself, the easier it will be to produce your final research paper on thesis (Williams & Chesterman, 2007, p. 101).

Em vez disso optou-se por seguir uma lista reduzida, elaborada com base nas práticas apreendidas durante a formação curricular, de tarefas a cumprir, tendo por base o plano de tarefas presente na proposta apresentada.

Depois da temática do projeto estar escolhida, passou-se à elaboração de várias pesquisas de textos relacionados com a influência das bagas na saúde. Para esta pesquisa usou-se, não só o motor de busca *Google*, mas também a plataforma B-ON disponibilizada pela Universidade de Aveiro. Esta escolha teve como critério a opinião pessoal da autora, assim como a sua interpretação de quais seriam mais pertinentes para ajudar a nossa sociedade. Uma vez que nenhum dos textos possuía, por si só, nem densidade nem dimensão suficiente para ser considerado para um trabalho de projeto, optou-se pela seleção de vários textos para obter um objeto de trabalho aceitável. Em simultâneo com esta pesquisa, foram recolhidos textos relacionados, na língua de chegada, de modo a constituir um *conjunto de textos paralelos* e enriquecer o conhecimento da tradutora sobre a temática, de forma a posteriormente a tradução se tornar mais fácil. Ao elaborar o *Corpus* referido anteriormente, a ferramenta Corpógrafo mostrou-se bastante útil, pois permitiu a inserção dos textos constituintes do *Corpus* numa base de dados, que mostrou facilitar posteriores consultas e permitiu a elaboração de um glossário do projeto. Na criação do glossário o Corpógrafo mostrou-se, mais uma vez extremamente útil, visto ter feito automaticamente um levantamento de vários candidatos a termo a partir do conteúdo da base de dados já referida.

Tendo desenvolvida uma primeira fase do glossário passei à tradução dos vários textos. Ao longo desta fase do trabalho, houve uma pesquisa e utilização permanente de ferramentas em linha, tais como, dicionários, bases de dados e enciclopédias e também de ferramentas em papel como o Dicionário Monolingue Oxford Advanced Genie. Ao longo da tradução foram sendo adicionados termos considerados pertinentes ao glossário de forma a enriquecê-lo.

Visto que nenhuma tradução está completa sem uma revisão, ao fim de traduzir os textos, a autora procedeu a uma primeira revisão e posteriormente recorreu à orientadora para uma segunda revisão de modo a assegurar a correção do produto final.

Na fase seguinte da elaboração do projeto procedeu-se ao preenchimento da tabela onde o glossário foi desenvolvido. Este desenvolvimento consistiu em preencher os campos que até então ainda estavam em branco: equivalente, contexto e fonte. Para o fim referido, mais uma vez o Google foi fundamental, visto que os termos eram de fácil identificação na língua de chegada. Desta forma, o recurso a uma técnica da área da química e ao Google permitiu a confirmação dos equivalentes. O Google académico mostrou-se igualmente útil na procura de contextos para os termos e respetivas fontes.

5. FERRAMENTAS UTILIZADAS

Durante todo o processo de desenvolvimento deste projeto, várias foram as ferramentas utilizadas, as quais serão referidas de seguida.

Numa fase inicial, enquanto se decidia a temática deste projeto, e posteriormente, os vários motores de busca disponíveis em linha mostraram-se fundamentais: numa primeira fase, na recolha de informação e posteriormente, na verificação de termos e/ou expressões. Apesar de se terem usado vários motores de busca, há a salientar a utilização do Google, visto este ser o mais usado e completo de todos, e, como diz Brian Mossop:

I refer exclusively to Google, the most popular search engine used by translators [...] If a word combination is idiomatic, it will be easy for the translator to enter the expression in Google and supply a large number of instances within seconds.
(Mossop, 2007, p. 93)

O Google é uma ferramenta muito simples de utilizar e muito intuitiva. Apesar da sua simplicidade, trata-se de uma ferramenta muito completa, visto que além de pesquisas de cariz geral, que se podem cingir ao nível de língua e país de origem dos artigos que surgem, possui uma outra opção extremamente útil, o Google Académico, onde se encontram artigos de cariz académico.

Feita a referida pesquisa, outra ferramenta utilizada que se mostrou ser uma forma de enriquecer o conhecimento sobre Ferramentas de Apoio à Tradução foi o Corpógrafo. Como se pode ver no tutorial sobre o Corpógrafo disponível no sítio www.linguateca.pt:

O Corpógrafo é uma plataforma destinada à análise e ao trabalho sobre Corpora com o objetivo essencial de produzir diversos recursos linguísticos em suporte informático. O Corpógrafo pretende apoiar os investigadores da língua portuguesa num conjunto de tarefas que vão desde a compilação de Corpora, à extração e organização do conhecimento gerado a partir deles.

O Corpógrafo é uma ferramenta criada pela Faculdade de Letras da Universidade do Porto com o intuito de facilitar a criação e pesquisa sobre *Corpora* especializados. Trata-se de uma ferramenta muito pouco intuitiva, contudo, depois de se ter adquirido algumas noções, mostra-se um contributo muito importante em trabalhos como este. Para obter as noções base de como utilizar o Corpógrafo, além do estudo do tutorial existente no sítio da *Linguatca* a ajuda da docente de Tecnologias de Apoio à Tradução foi imprescindível.

Ao nível da tradução a autora cingiu-se à utilização do MSWord em associação com outras ferramentas, tais como, dicionários, bases de dados terminológicas e enciclopédias em linha, das quais há que salientar a INFOPEDIA, tanto enquanto dicionário bilingue, como dicionário monolingue de português, para confirmar a existência de termos de cariz geral; a base de

dados europeia IATE, que foi extremamente útil com determinados termos específicos, tais como flavonoid, que tem como equivalente flavonóide, caffeic acid, cujo equivalente é ácido cafeico, entre outros. Mas não só se recorreu de ferramentas em linha, também foi usado o Dicionário Monolingue Oxford Advanced Genie em formato de papel que se mostrou bastante útil para perceber o significado de algumas expressões feitas. Outra fonte que se mostrou muito importante nesta fase do trabalho, foi uma especialista da área da química, que ajudou, não só a nível de termos relacionados com as componentes dos alimentos referidos, mas também a nível de materiais usados em laboratório.

6. REVISÃO

De acordo com o dicionário da língua portuguesa da Porto Editora, na sua versão em linha pelo sítio www.infopédia.pt, revisão é:

nome feminino

1. Ato ou efeito de rever
2. Exame minucioso
3. DIREITO análise de uma lei ou de um processo para retificação
4. TIPOGRAFIA correção de provas tipográficas
5. Funções ou gabinete do revisor
6. Corpo de revisores de um jornal ou de uma editora

A revisão é também o último passo de todas as traduções. É a forma como o tradutor corrige possíveis gralhas, erros de ortografia e formatação, e não só. Este passo é extremamente importante. De acordo com Mossop:

Revising is that function of professional translators in which they identify features of the draft translation that fall short of what is acceptable and make appropriate corrections and improvements. (Mossop, 2007, p. 109)

A revisão é a chave para um grande melhoramento da qualidade do texto traduzido, e é inadmissível que um trabalho de tradução, de natureza universitária e/ou profissional que não seja submetido a qualquer revisão.

Numa primeira fase, e com algum distanciamento do momento da tradução, a autora do projeto desenvolveu uma revisão dos textos traduzidos, na qual verificou um sem número de alterações a fazer. Depois de uma revisão inicial feita pela autora, desenvolveu-se uma segunda revisão por parte da orientadora da mesma. Ao receber este feedback, verificou-se que ainda haveria várias alterações a fazer de forma a melhorar o trabalho. Possivelmente, se daqui a um mês se voltar a rever os textos encontrar-se-ão mais pontos a melhorar. Ao elaborar a revisão das traduções deste projecto, teve-se em atenção anomalias ou erros terminológicos, não aceitáveis nos textos de chegada. Desta forma, o trabalho de tradução presente neste projeto sofreu uma grande melhoria qualitativa.

Assim, pode-se concluir que uma tradução é sempre um trabalho em progresso, pois não existe qualquer cálculo científico que a verifique como estando cem por cento correta, contudo, pode sempre ser melhorada.

7. DIFICULDADES E RESPOSTAS PARA AS MESMAS

Ao longo da tradução dos vários textos surgiram várias dificuldades que se contornaram da melhor forma possível. A maior parte destas dificuldades encontraram-se devido à falta de conhecimento específico no domínio da química, presente nos textos. Outro tipo de dificuldade que ocorreu no desenvolvimento do trabalho foi o nome de algumas instituições e simpósios, o que provocou a dúvida de quais deveria traduzir e quais deveriam manter-se na língua de partida.

No que diz respeito ao primeiro tipo de dificuldade há que salientar termos como: *well plate*. Para contornar esta dificuldade, o primeiro passo seguido foi o de descobrir o conceito subjacente à palavra. Neste ponto, foi feita uma pesquisa por imagens no Google e verificou-se que se tratava de um utensílio usado em laboratório.

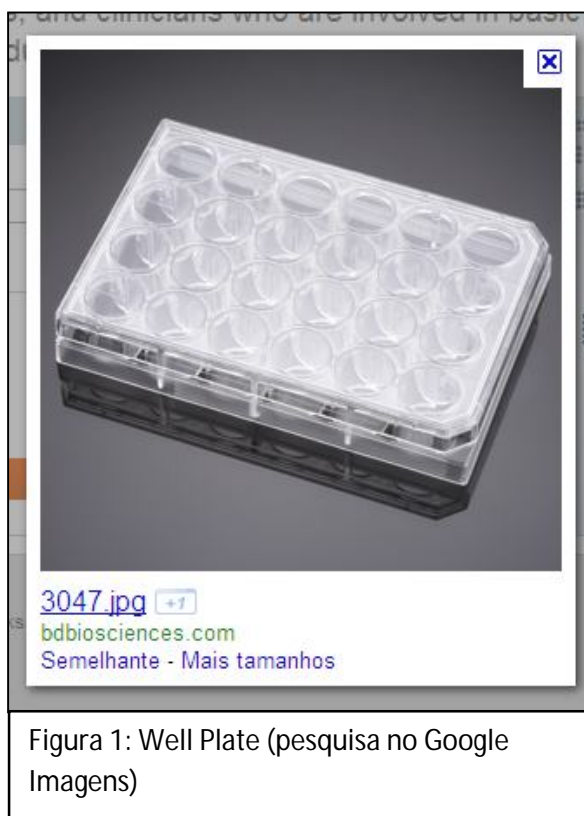
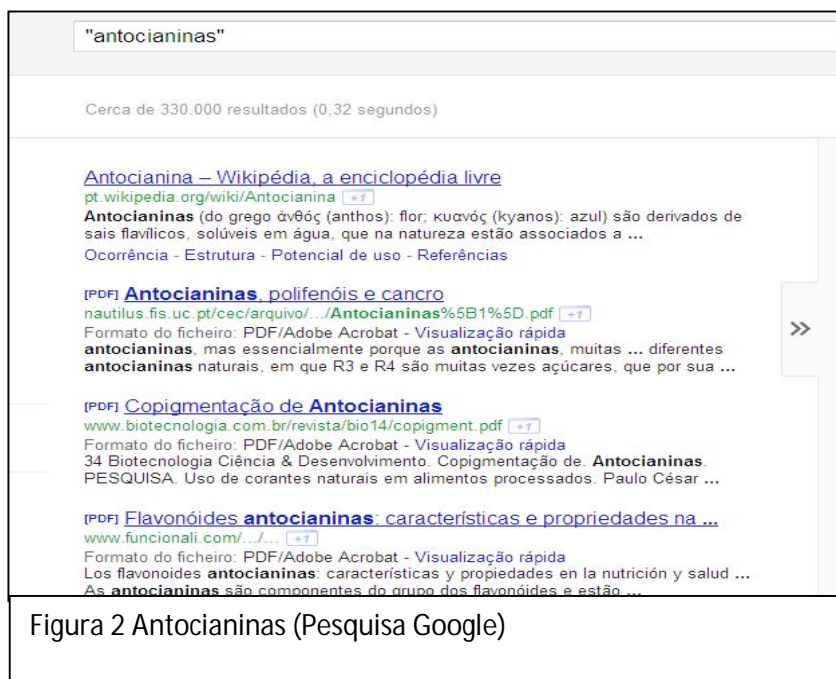


Figura 1: Well Plate (pesquisa no Google Imagens)

Foram elaboradas pesquisas por uma definição, em sítios de cariz científico e, a partir dos textos lidos, em adição à definição existente na Wikipedia percebeu-se que se tratava de uma base com vários separadores onde se executava a criação de culturas. Como ponto de partida experimentou-se a versão portuguesa do termo existente na Wikipedia, surgindo assim, "Placa

de titulação". Após pesquisa no Google sobre "placa de titulação", e visto não ter surgido em sítios de cariz fiável recorreu-se a uma técnica da área da química que aconselhou o sítio de propaganda e venda de material de laboratório www.prolab.com.br, onde foi encontrado o mesmo utensílio com a denominação de placa para cultura de células, e de acordo com a fonte seria o termo mais comumente usado também em Portugal.

Outras dificuldades que se ergueram na evolução deste trabalho foram as referencias aos constituintes das bagas e às reações químicas geradas pelos e sobre os alimentos no organismo humano, tais como, anthocyanins, hydroxycinnamic acids, hydroxybenzoic acids. Como resposta a estes problemas optou-se por pesquisar por termos idênticos em Portugal, ou seja, antocianinas, ácidos hidroxicinâmicos e ácidos hidroxibenzoicos, respetivamente. No primeiro caso: o termo surgiu em cerca de 330.000 entradas, sendo a grande maioria de fontes



relacionadas com as ciências, deste modo, o termo anthocyanins foi traduzido por antocianinas. No segundo caso, fez-se a pesquisa com o termo referido, que remeteu a pesquisa para ácidos hidroxicinâmicos, como pode ser visto na imagem seguinte. Após pesquisa decidiu-se pela aceitação da sugestão dada pelo Google, sendo o termo hydroxycinnamic acid traduzido por ácidos hidroxicinâmicos.

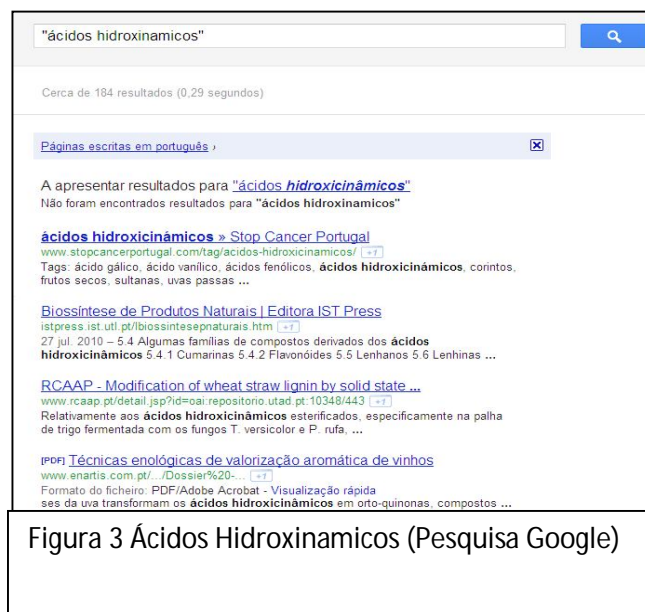


Figura 3 Ácidos Hidroxinâmicos (Pesquisa Google)

Por último, pesquisou-se no motor de busca anteriormente referido por [ácidos hidroxibenzoicos](#) que, apesar de apenas mostrar 41 entradas, todas elas são de sítios de cariz científico, tornando assim o termo fiável. Assim sendo, o termo *hydroxybenzoic acids* foi traduzido por ácidos hidroxibenzoicos.

No caso da tradução ou não dos nomes de instituições e simpósios o Google, com a sua pesquisa avançada, foi a chave da decisão sobre que decisão tomar. Procedeu-se à pesquisa pelos nomes de instituições e simpósios em versão original e em português. E verificou-se a existência de sítios fidedignos onde surgisse tal nome. Por exemplo: *second international nuts and health symposium*:

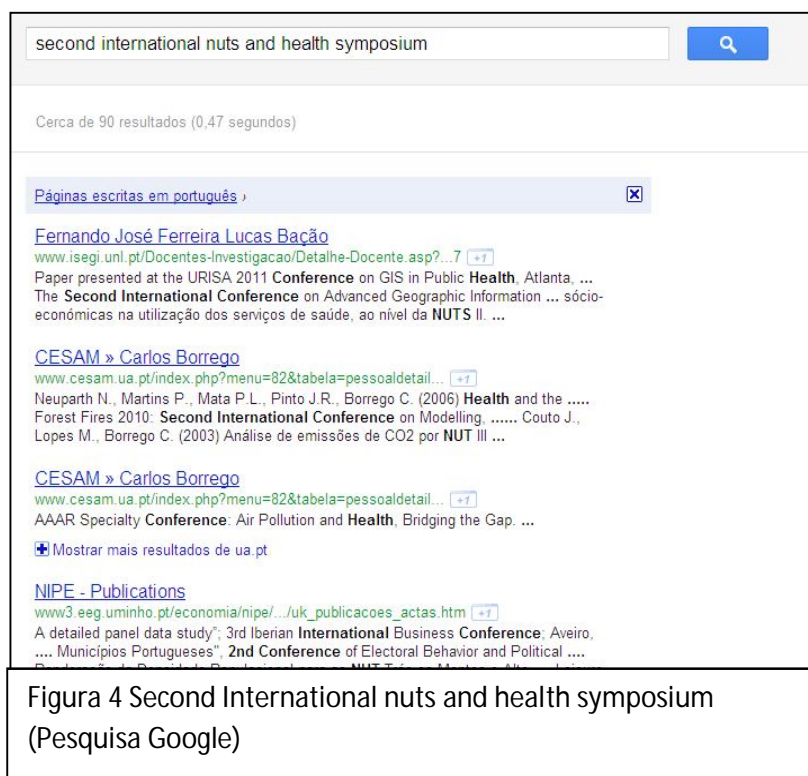


Figura 4 Second International nuts and health symposium (Pesquisa Google)

O título apresentado deste simposio não surge no Google, tendo a pesquisa avançada em páginas de Portugal, deste modo, de seguida, fez-se a mesma pesquisa com a expressão traduzida para português, com este conjunto de palavras não surge qualquer entrada. Por esse motivo pesquisou-se seguidamente apenas por “II simposio internacional”:



Figura 5 II Simposio Internacional (Pesquisa Google)

Como se pode ver, nesta série de palavras encontram-se muitas entradas. Deste modo, optou-se por proceder à tradução e acrescentar que a temática do referido simposio é a saúde e os frutos secos. O processo aqui referido foi utilizado em todas as situações em que se deparou com o mesmo problema.

No que diz respeito à tradução ou não do nome de Instituições, após várias pesquisas em sítios de tradução optou-se pela manutenção do nome das mesmas, na língua de partida.

8. GLOSSÁRIO

Antes da dedicação à tradução propriamente dita, procedeu-se a um levantamento de termos para a elaboração do glossário, tendo por base os vários textos presentes no *Corpus*. Nesta fase da criação do glossário, a ajuda do Corpógrafo, uma ferramenta de pesquisa de *Corpora*, mostrou-se verdadeiramente útil. O Glossário referido pode ser encontrado no último Anexo do projeto.

Como podemos ver no texto “Introduzindo o Corpógrafo – um conjunto de ferramentas para criar *corpora* especializados e bases de dados terminológicas”:

O Corpógrafo (Sarmiento & Maia, 2003; Sarmiento, Maia & Santos, 2004) é, assim, uma plataforma de pesquisa sobre corpora especializados que surge da necessidade de integrar no mesmo ambiente todo um conjunto de operações e de processos, anteriormente realizados utilizando várias ferramentas ou sistemas cujo acesso era muitas vezes restrito ou difícil.

Resumidamente, esta fase da criação do Glossário cingiu-se ao registo da autora no Corpógrafo, no sítio da *Linguateca*; à criação de uma base de dados com os textos seleccionados anteriormente de modo a criar um *corpus*; ao levantamento dos candidatos a termo, que é feito de forma automática pela ferramenta, e, posteriormente, seleccionar os termos que pareceram pertinentes a partir da lista fornecida pelo Corpógrafo, com o apoio de um especialista. Contudo, os termos do glossário seriam mais do que estes, pois à medida que a tradução evoluía, adicionaram-se termos que surgiram nos textos e que ainda não constavam no glossário.

A tabela onde o glossário foi elaborado é composta pelos seguintes campos: Termo; Equivalente; Contexto e Fonte. Trata-se dos campos mais apropriados num glossário proveniente dos textos referidos, pois como se considera que o glossário poderá figurar num sítio da Internet, num futuro próximo, torná-los-á mais acessíveis ao público em geral.

9. TRADUÇÃO

Nesta etapa do projeto pretende-se, tendo por base o trabalho reflexivo de alguns autores, desenvolver um pouco do que consiste a tradução.

De acordo com o Dicionário da Língua Portuguesa da Porto Editora, na sua versão em linha pelo sítio www.infopedia.pt

Tradução

Nome feminino

1. Ato de traduzir ou verter de uma língua para outra
2. Texto ou obra traduzida; versão
3. *Figurado* *significação*; explicação
4. *Figurado* *interpretação*

Numa primeira análise, traduzir consiste em passar um texto de uma língua para outra, e como nos diz Frank Austerlühl no seu livro “Electronic tools for translators”:

The main task of translation – the transfer of technical and cultural information – can now only be achieved through the use of extensive knowledge bases [...] translation requires new strategies and a paradigm shift in methodology (Austerlühl, 2001, p. 1)

Na opinião da autora, tendo por base os conhecimentos adquiridos ao longo da licenciatura e do mestrado, a tradução consiste na transferência do sentido, de um texto numa língua para um texto numa outra, fiel ao original e que tem por objetivo valer por si só, ou seja, ficar absolutamente independente do texto de partida.

Traduzir um texto é um trabalho relativamente simples, o trabalhoso e desafiante deste trabalho mágico é o saber como transferir, de uma cultura para outra, conceitos culturais característicos. Apesar da existência de várias linhas orientadoras de como desenvolver uma tradução, não se podem considerar estratégias corretas ou erradas, apenas estratégias diferentes.

A tradução é uma atividade que constrói qualquer coisa, também chamada uma tradução. Ou seja, é, ao mesmo tempo, processo e resultado. É importante chamar a atenção para uma coisa óbvia, que no entanto nem sempre é sublinhada: por outro lado, uma tradução é um processo direcional de criação. Por outro, o resultado é uma relação, bidirecional, mas nunca unívoca, entre dois lados/textos/objetos comunicativos (Santos, 2004, p. 2)

Um dos pontos que torna a tradução tão especial é tratar-se de uma atividade que pode ser iniciada a qualquer altura da vida, visto que temos no nosso país boas condições para adquirir conhecimentos no âmbito da especialização na área da tradução. O ponto alto de começar

esta especialização numa idade mais avançada consiste na bagagem cultural que uma pessoa carrega ser completamente diferente da que uma pessoa mais nova ainda está a construir.

Como nos diz Daniel Gouadec:

Translation aims at allowing effective communication (Gouadec, 2007, p. 5)

Ou seja, é a chave da comunicação a vários níveis, não só de natureza linguística, mas também, a nível simbólico e físico. Com este trabalho, pretende-se permitir a mais pessoas receberem a comunicação existente nos textos trabalhados de modo a melhorar a sua saúde e qualidade de vida. Deste modo, por outras palavras:

Translation is vital for the dissemination of goods, products, services, concepts, ideas, values, etc. (idem)

De forma a desenvolver uma tradução organizada devemos contar com três fases: pré-tradução, tradução e pós tradução como nos explica Gouadec no seu livro *Translation as a Profession*:

Pretranslation includes anything that takes place up to the moment the translator actually receives the material for translation: everything that has to do with getting the job, writing out estimates, negotiating, getting the specifications right, contracting. (Gouadec, 2007, p. 13).

No presente projeto, esta pré-tradução consistiu na discussão sobre a temática a trabalhar, e na referência das condições em que o trabalho iria ser realizado. Como ainda não se trata de um trabalho remunerado a nível profissional não houve a etapa de negociação.

Translation in turn is divided into three stages:

1. *Pretransfer*
2. *Transfer*
3. *Post-transfer*

Pretransfer includes all operations leading up to the atual 'translating', including preparation of the material, documentary searches, alignment, memory consolidation, terminology mining, deciding on options, etc. (idem)

A pré-transferência deste projeto consistiu na pesquisa de textos paralelos dos textos de partida para conhecimento da temática, na organização das atividades a desenvolver ao longo da tradução, de realçar, uma tradução-rascunho e pesquisa terminológica.

Transfer is the well-known core activity of shifting to another language-culture combination (ibid).

Como referido por Gouadec, a etapa de transferência consiste, e consistiu no presente trabalho, na tradução propriamente dita. Foram traduzidos textos técnicos, tais como, "Food Chemistry" e "Nuts and Berries for Heart Health", e um texto de divulgação científica, nomeadamente, "Food RX". Nestes textos encontra-se informação valiosa que irá permitir o enriquecimento do conhecimento a indivíduos em formação que se interessem pela temática.

Post-transfer covers anything that has to be done to meet the quality requirements and criteria prior to delivery of the translated material. It mostly pertains to quality control and upgrading. It also includes formatting and various preparations for delivery. (ibidem)

Resumidamente, esta fase da tradução, a pós-transferência, consiste em todos os desenvolvimentos a levar a cabo após a tradução propriamente dita. Verificação de vocabulário, de estruturas frásicas, correção de lapsos. Por outras palavras, a revisão, tanto do texto propriamente dito como na formatação.

Post-translation covers all activities that follow delivery of the translated material. These include possible integration of the translated material (as in simulation of subtitles, layout prior to publishing, integration in a Web site or in an international soundtrack, etc.) but also, of course, all the “administrative” business of getting paid, setting up an archive of the project, consolidating the terminology for future uses, and much more. (idem)

É importante que o texto de chegada consiga ser independente do texto de partida pois senão não faria sentido traduzir.

After that it stands alone, patently derivative but a text in its own right. As books translators differ from original texts only on the title page, where it is advertised, that this work is a translation, made from language X by translator Y. (Baker, 2009, p. 51)

Vivemos num mundo em que muitas situações são resolvidas através da língua global por excelência: o inglês. Muitas reuniões entre empresas de países com língua materna diferente são realizadas em inglês, o que provoca em muitos a dúvida de que será necessário, ou não, haver tradutores? Como Austerlühl questiona:

Do we, as citizens of the ‘global village’, really need translation at all? (Austerlühl, 2001, p. 2)

De acordo com a opinião da autora, a tradução fará sempre todo o sentido, uma vez que cada pessoa nasce inserida numa cultura, que envolve um mundo próprio, e é graças à tradução que consegue adquirir conhecimentos tradicionalmente existentes noutras culturas sem os deturpar. Felizmente nem todos concordam com a noção de acabar com a tradução em especial na Europa como refere Austerlühl:

The European Union stands as one of the few bastions against linguistic uniformity [...] 15 member states the privilege of using their state languages to conduct their official business within EU institutions. (Austerlühl, 2001, p.3)

Uma tradução nunca está cem por cento terminada, visto que há sempre melhoramentos passíveis de realizar. Deste modo, trata-se de um processo permanentemente em desenvolvimento que pode sempre ser melhorado.

10. CONCLUSÃO

Tratou-se este projeto do último trabalho de uma série realizada ao longo de toda a Licenciatura em Tradução e o Mestrado em Tradução Especializada. Trata-se do culminar de uma etapa e em simultâneo do início de outra que se espera ser ainda mais gratificante e enriquecedora do que a que agora finda. Durante a elaboração deste projeto foram postos em prática os conhecimentos adquiridos durante este percurso de quase seis anos, os quais permitiram o enriquecimento académico da autora, proporcionando-lhe um leque de áreas onde trabalhar futuramente.

O tradutor, além de ser aquela pessoa que transforma textos de uma língua em textos noutra língua, é também aquela pessoa que, através do seu trabalho, proporciona a receção de conhecimentos sobre novas informações, novas culturas etc. Mas a tradução não se limita de texto escrito para texto escrito, pois, no que diz respeito à tradução audiovisual, torna possível a pessoas com alguma deficiência obterem as informações todas que as pessoas sem elas adquirem sem qualquer esforço.

Nos dias de hoje, em que as preocupações com a saúde são cada vez maiores por parte do cidadão comum, torna-se muito importante a realização de trabalhos que disponibilizem um maior leque de informação a consultar. Com a realização deste trabalho permitir-se-á que indivíduos em formação e com interesse na temática dos benefícios das bagas na saúde, mas com pouco conhecimento da língua inglesa, possam ter acesso a tal informação. Deste modo espera-se um alargamento das pessoas que possuam a consciência das bagas na melhoria da nossa saúde e qualidade de vida.

A autora espera que, com a realização deste projecto, as pessoas se informem mais sobre os benefícios das bagas e dos frutos secos na nossa saúde, visto tratar-se de alimentos, que quando consumidos com conta, peso e medida podem prevenir e até melhorar o estado de várias doenças, tais como, diabetes, problemas cardíacos, obesidade, entre outros.

O projeto que aqui termina, consistiu num trabalho que na opinião da autora poderia ser publicado em sítios de empresas que mostrem interesse nos benefícios e cultivo das bagas, tais como Mertilusa e Beirabaga. Apesar de já haver empresas como as referidas interessadas na produção e expansão destes produtos, ainda há um longo caminho a percorrer para que as bagas, assim como as informações sobre as mesmas, cheguem a todas as pessoas, de modo a estas terem consciência de ideias simples de melhorar a sua qualidade de vida.

A elaboração deste projeto mostrou-se como uma bela paisagem no fim de um longo e sinuoso percurso. Ao longo de toda a licenciatura e de todo o mestrado houve etapas mais

positivas e gratificantes do que outras, contudo todas elas contribuíram para chegar a este ponto com o sentimento de dever cumprido e realização pessoal, de modo a que se pode contabilizar um saldo bastante positivo.

11. BIBLIOGRAFIA

- AUSTERMÜHL, Frank (2001), *Electronic Tools For Translators*. Manchester: ST. Jerome.
- ANELO, Carmen (2003-2004), Guarddon Philosophy, Anthropology and Translation, *Journal of Translation*. VOLUME 4, pp 89-105.
- BAKER, Mona (2008), *Routledge Encyclopedia of Translation Studies*. London. Routledge.
- BAKER, Mona (1997), *In Other Words: Coursebook on Translation*. London Routledge.
- BAKER, Mona (2009), *Critical Readings in Translation Studies*. London Routledge.
- GOUADEC, Daniel (2007), *Translation as a profession*. USA John Benjamins North America
- MOSSOP, Brian (2007), *Revising and Editing for Translators*. Manchester, UK & Kinderkook (NY), USA St Jerome Publishing
- SANTOS, Diana (2004), *Translation-based Corpus Studies*. Amsterdam Editions Rodopi.
- VENUTI, Lawrence (2004), *The Translation Studies Reader*. Routledge.
- WILLIAMS & CHESTERMAN, (2007) *The Map: A Beginner's Guide To Doing Research In Translation Studies*. Manchester. St. Jerome Publishing

12. BIBLIOGRAFIA EM LINHA

Motores de busca:

Google

<http://www.Google.pt>

consultada pela última vez a 21 de novembro de 2011.

<http://www.Google.com>

consultada pela última vez a 21 de novembro de 2011.

Google Académico

<http://scholar.google.pt>

consultada pela última vez a 21 de novembro de 2011.

Google Livros

<http://books.google.com/books?hl=pt-PT>

consultada pela última vez a 21 de novembro de 2011.

Yahoo

<http://www.Yahoo.com>

consultada pela última vez a 21 de novembro de 2011.

Bing

<http://www.bing.com>

consultada pela última vez a 21 de novembro de 2011.

Empresas da área:

Beirabaga

<http://www.beirabaga.com/>

consultada pela última vez a 21 de novembro de 2011.

Mirtilusa

<http://www.mirtilusa.com/>

consultada pela última vez a 21 de novembro de 2011.

Gramática:

Learn English

<http://www.learnenglish.de/grammar/nouncompound.htm5>

consultada pela última vez a 21 de novembro de 2011.

The English Plus + Web Site

www.englishplus.com:

consultada pela última vez a 21 de novembro de 2011.

Dicionários:

Answers

<http://www.answers.com/topic/prove-out>

consultada pela última vez a 21 de novembro de 2011.

Dictionary.com

<http://dictionary.reference.com/browse/prove+out>

consultada pela última vez a 21 de novembro de 2011.

Infopédia

<http://www.infopedia.pt/>

consultada pela última vez a 21 de novembro de 2011.

The Free Dictionary

<http://www.thefreedictionary.com/>

consultada pela última vez a 21 de novembro de 2011.

Base de dados europeia:

IATE

<http://iate.europa.eu/iatediff/SearchByQuery.do>

consultada pela última vez a 21 de novembro de 2011.

Outros:

ATS Language Translation

<http://www.ats-group.net/index-2.html>

consultada pela última vez a 21 de novembro de 2011.

13. APÊNDICE

Berries: Improving Human Health and Healthy Aging, and Promoting Quality Life—A Review

Octavio Paredes-López · Martha L. Cervantes-Ceja ·
Mónica Vigna-Pérez · Talía Hernández-Pérez

Published online: 20 July 2010
© Springer Science+Business Media, LLC 2010

Abstract The importance of the diet in relation to human health has increased the interest of consumers on nutraceuticals rich foods, and especially on fruits and vegetables. Berries are rich sources of a wide variety of antioxidant phenolics; these phytochemicals include flavonoids, stilbenes, tannins, and phenolic acids. Reactive oxidant species and free radicals are produced in an extensive range of physiological processes. In addition to the antioxidant defenses produced in the body, there are exogenous sources supplied by the diet; this is the case of berry fruits, among others. The insufficiency of antioxidant defense mechanisms is associated to the pathology of chronic disorders such as cardiovascular diseases, inflammation, and diabetes. Therefore, the enforcement of the latter mechanisms is of the utmost importance. The isolation and characterization of compounds that may delay the onset of aging is

receiving intense research attention; some berry phenolics are being associated with this functional performance. Berry phenolics may also act as antimicrobials which may be of help in the control of the wild spectra of pathogens, in view of recent problems associated with antibiotic resistance. Most of the research works on the antioxidant activity of bioactive constituents of berries has been carried out using *in vitro* assays. In view of this, the human studies investigating the bioavailability and potential toxicity of phenolics are receiving more attention. Finally, we would like to emphasize the necessity of associating new plant breeding and genetic studies of berries with the expression and overexpression of compounds for human health and healthy aging.

Keywords Fruits · Antioxidant activity · Bioactivity · Pharmacokinetic properties · Beneficial effects · Healthy life

O. Paredes-López · M. L. Cervantes-Ceja ·
T. Hernández-Pérez (✉)
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto
Politécnico Nacional, Unidad Irapuato,
Km. 9.6 Libr. Norte Carr. Irapuato-León, Apdo. Postal 629,
Irapuato, Guanajuato 36821, Mexico
e-mail: thernand@ira.cinvestav.mx

M. L. Cervantes-Ceja
PROPAC (Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la
República), Universidad Autónoma de Querétaro,
Querétaro, Querétaro 76010, Mexico

M. Vigna-Pérez
Laboratorio de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas,
Universidad Autónoma de San Luis Potosí,
San Luis Potosí, Mexico

Abbreviations

ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
C _{max}	The maximum plasma concentration
DCFH	2',7'-dichlorofluorescein
DPPH	2,2-diphenylpicrylhydrazyl
FRAP	Ferric-reducing/antioxidant power
HDL	High-density lipoproteins
LDL	Low-density lipoprotein
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity
PAC	Plasma antioxidant capacity
ROS	Reactive oxidant species
T _{max}	The time after administration of a drug when the maximum plasma concentration is reached

Introduction

The relationship between diet and health has increased the demand of consumers for more information about nutraceuticals rich diets, which include fruits and vegetables [1, 2]. Their bioactive constituents present beneficial effects in human health and prevent chronic diseases [3]. Berries may be one of the components of healthy diets because they contain a wide variety of phenolic compounds [4–6]; blackberry (*Rubus* sp.), bilberry (*Vaccinium myrtillus*), blackcurrant (*Ribes rugrum*), blueberry (*V. corymbosum*), chokeberry (*Aronia melanocarpa*), cranberry (*V. macrocarpon*), bayberry (*Myrica* sp.), raspberry (*R. idaeus*), black raspberry (*R. occidentalis*) and strawberry (*Fragaria ananassa*) are usually consumed in fresh and in processed forms in the human diet; interestingly, berries are exceptionally-rich sources of antioxidant phenolics [7, 8]. Phenolic compounds are the major group of phytochemicals in berry fruits including flavonoids (anthocyanins, flavonols, flavones, flavanols, flavanones, and isoflavonoids), stilbenes, tannins, and phenolic acids [8]. Diverse studies have shown that the biotic and abiotic factors play an important role in the concentration of berries phenolic compounds and in the antioxidant capacity [9–12]. The phenolics contribute to the protection against degenerative diseases, and their effects on health have been mostly attributed to their antioxidant properties. Improving our knowledge on their bioavailability is an important step to understand the possible mechanism of their health effects and to characterize the impact of berries in human healthy life [13, 14].

This review summarizes data related to *in vitro* antioxidant capacity of berries, emphasizing the role of phenolics. In addition, the importance and biological activities of phenolics in berries on promoting human health is described. Moreover, data collected from studies on bioavailability including dietary intake, metabolism, and pharmacokinetic properties are discussed.

Phenolic Components in Berries

Berry fruits are rich sources of phenolics such as phenolic acids, flavonoids, stilbenes, and tannins. Berry fruits phenolics possess one or more aromatic rings with hydroxyl groups. They are classified by their structural characteristics as phenolic acids, stilbenes, flavonoids (flavanols or catechins, flavonols, flavones, flavanones, isoflavonoids, anthocyanins), tannins, and lignans [8, 65, 66]. The classification of phenolic constituents is illustrated in Fig. 1.

In recent years various research studies have targeted the study of berry bioactive compounds, their characterization and utilization in functional foods and their beneficial

properties for human health based on clinical assessment (Fig. 2). The World Health Organization (WHO) emphasizes the importance of antioxidant activity of phenolic components, especially from small colorful fruits, for prevention of the most important health problems namely cardiovascular diseases, diabetes, cancer, and obesity [15, 16]. Many phenolic compounds of berries are responsible for the color (i.e. anthocyanins) and flavor (i.e. tannins) [17]. Some factors such as species, variety, geographic region, storage conditions, ripeness, climate and others may affect the concentration of phenolics in berries [18–21]. The phenolic compounds protect plants against adverse factors such as infections, physical damage, UV radiation and other factors [18, 22]. For example, the skin of green grapes contains resveratrol; this stilbene serves as phytoalexin. The major function of resveratrol is to protect plants against fungal infections, especially against infection with *Botrytis cinerea* [23, 24].

There is evidence supporting the higher levels of phenolic content and antioxidant capacity of wild berries compared with those domesticated and genetically derived crops [9]. The anthocyanin and phenolic contents, and antioxidant capacity of wild species (*Rubus* and *Ribes*) and germplasm of dark berries are very impressive; this situation is mainly because growing conditions, and environmental stress, among other factors, may influence these properties [25, 26].

On the other hand, the biggest contribution to the antioxidant capacity of berries of the genus *Rubus* and *Fragaria* is ellagitannins, which represent between 51% and 88% of all phenolic compounds; the level in red fruit, compared to fully ripe red fruit, can be up to 50% lower. These differences are very relevant for determining the best harvest time. This indicates that growth conditions, including stress, may affect the raspberry antioxidants and should be used to assess antioxidant levels at the time of harvest [27]. Moreover, berries may have 3-fold more ellagitannins content than pecans and walnuts and about 15-fold more than other fruits and nuts [27, 28].

The phenolic, flavonoid, and anthocyanin contents of berry species are presented in Table 1. Redcurrant, blackberry, and bilberry show remarkable high contents of phenolics [4, 10, 29, 31], flavonoids [9, 33, 34], and anthocyanins [30].

Stilbenes are small naturally occurring phenolic compounds found in a wide range of plant foods sources; berries are an important source of them. Resveratrol, pterostilbene, and piceatannol are stilbenes found in deerberry, cowberry, blueberry, and lingonberry [41–43]. An analogue of resveratrol, pterostilbene, is a more potent antioxidant and powerful chemopreventive agent than resveratrol [43]. Resveratrol and analogues present important biological properties including anti-inflammatory, anti-

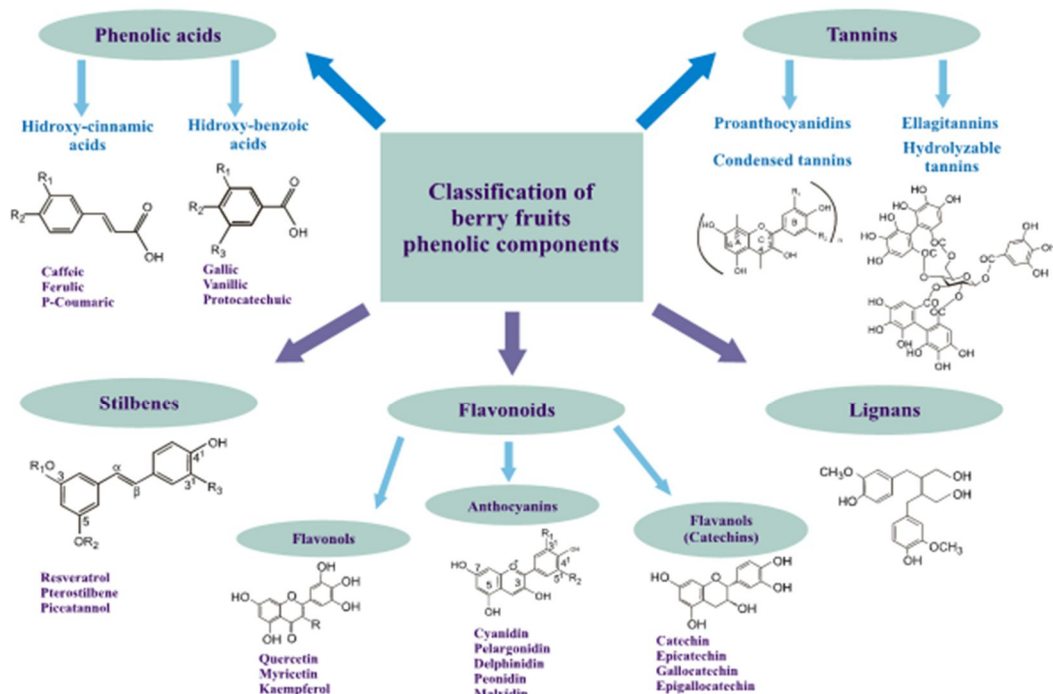


Fig. 1 Phenolic components in selected berry fruits

allergenic, antiaging, algicidal, antimutagenic, anticancerigen, and other activities [44–48].

The flavonols quercetin and kaempferol are widely distributed in fruits, but particularly abundant in berries as bilberry (4.13–13 mg/100 g of fresh fruit), cranberry (21–21.96 mg/100 g of fresh fruit), and chokeberry (8.9–89 mg/100 g of fresh fruit) [33, 35, 49, 50].

Anthocyanins are an important group of phenolics in berries; they are responsible for their pigmentation. These pigments are found in the skin of fruits. In the cell, anthocyanins are found in vacuole sites denominated anthocyanoplast [17, 39, 51, 52]. The principal anthocyanin found in most fruits is cyanidin-3-glucoside. Malvidin glycosidic derivatives are commonly found in red grape and products; and cyanidin was identified in some kinds of berry fruits: black chokeberry, elderberry, and in some berries of the genus *Rubus* which includes blackberry [39, 54].

Caffeic and ferulic acids are the most common phenolic acids in berries, and they are rarely found free; in general, are esterified with other molecules as carbohydrates and organic acids. The most common esters of hydroxycinnamic

acids are chlorogenic acid derivatives (esters of caffeic and quinic acids). Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) is characterized by high amounts of hydroxycinnamic derivatives such as chlorogenic acid [53]. The hydroxycinnamate esters are present in whole cranberry fruit in quantities averaging about 15 mg/100 g of fresh fruit [54].

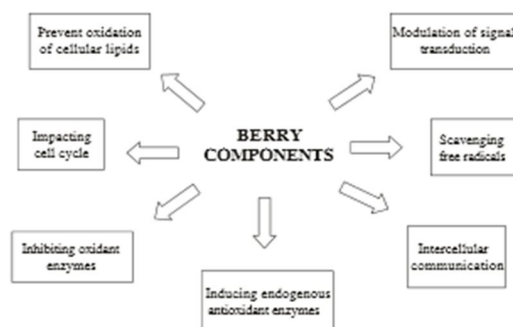


Fig. 2 Properties supporting the health beneficial effects of berries

Table 1 Total phenolics, flavonoids and anthocyanins content of berries

Berries/genus and species	Phenolics mg/g fresh weight	Flavonoids mg/g fresh weight	Anthocyanins mg/g fresh weight	Ref
Bilberry (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	525	44	300	[4, 19]
Blackberry (<i>Rubus fruticosus</i>)	486	276	82–326	[12, 36]
Blueberry (<i>Vaccinium corymbosum</i>)	261–585	50	25–495	[12, 20, 30]
Cranberry (<i>Vaccinium macrocarpon</i>)	315	157	67–140	[29, 33, 37]
Lingonberry (<i>Vitis vitis-idea</i>)	652	74	77	[29, 34, 36]
Raspberry (<i>Rubus idaeus</i>)	121	6.0	99	[28, 33, 38]
Redcurrant (<i>Ribes rugrum</i>)	1400	9.0	22	[31, 32, 39]
Strawberry (<i>Fragaria x. ananassa</i>)	313	–	54	[32, 40]

Berry Phenolics and Biological Effects and Human Health

Some studies indicate that biophenolic compounds may act as a new type of antimicrobials which may control the wild spectra of pathogens and may overcome the problems with antibiotic resistance. Nowadays, consumers are increasingly interested in their personal health and expect the foods to be sensory attractive and also safe and healthy. In the last years, *in vitro* and clinical studies have focused on certain microbial effects by cranberry phenolics [55]; condensed tannins of cranberry can inhibit the adhesion of uropathogenic fimbriated *Escherichia coli* to uroepithelial cells in the urinary tract [56, 57]. Some extracts of cranberry have been also reported to inhibit the adherence of uropathogenic *E. coli* as well as the inhibition of the sialic-acid-specific adhesin of *Helicobacter pylori* to human gastric mucosa, a critical step in gastric ulcer development [58]. Extracts of cranberry contain high molecular weight materials that inhibit viral adhesion and infectivity of the A and B influenza viruses [59]; these studies have been supported by clinical experimentation showing that regular consumption of cranberry and its products can suppress urinary infections, *H. pylori* infections in epidemically affected populations, and influenza virus infections, and may have a therapeutic potential.

On the other hand, reactive oxidant species (ROS) and free radicals are produced in an extensive range of physiological processes. Oxidative stress is an imbalance between the production of ROS and antioxidant defense, and may lead to oxidative damage. This biological condition may result from insufficiency of antioxidant defense mechanisms, intense production of ROS, and excessive activation of ROS systems, which are implicated in aging and in the pathology of many chronic disorders, including cancer, cardiovascular diseases, inflammation, diabetes, Parkinson's and Alzheimer's disease and other pathologies [60–62]. In order to confront oxidative stress, human bodies have developed mechanisms

for maintaining redox homeostasis. These mechanisms include the non-enzymatic and enzymatic antioxidant defenses produced in the body, that is, endogenous, and others supplied by the diet namely exogenous ones. The exogenous antioxidants include phenolic acids, flavonoids, stilbenes and tannins [8, 62–65]. Phenolic compounds exhibit many biologically significant mechanisms of action, such as scavenging or detoxification of ROS, blocking ROS production, impacting cell cycle, suppression of tumors, modulation of signal transduction, apoptosis, detoxifying enzymes and metabolism (Fig. 2) [65, 66].

The antioxidant activity of bioactive constituents of berry fruits has been assessed using *in vitro* assays by measuring the ability to reduce and trap free radicals; their potential as antioxidant is usually measured by comparison with a reference substance, commonly Trolox (trade name of 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, a water-soluble derivative of vitamin E). Phenolics have been assessed as strong antioxidants and they appear to be more potent antioxidants than carotenoids, and vitamin E and C. The antioxidant capacity of berries has been studied using oxygen radical absorbance capacity (ORAC) method, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS⁺), ferric-reducing/antioxidant power (FRAP) method, and 2,2-diphenylpicrylhydrazyl (DPPH).

The antioxidant capacity of these fruits is shown in Table 2. Redcurrant is reported to have high antioxidant activity by ORAC assay. In the case of DPPH technique, blackberry shows high activity of this type, and blueberry by ABTS⁺ [10, 67, 68].

Concentrations in plasma of the antioxidants (PAC) include the action of antioxidant compounds from the diet and other endogenous compounds (enzymatic and non-enzymatic defenses in the body), and at the same time it is modulated by radical oxygen species production; the assessment of the concentration of intact phenolic in plasma is considered a biomarker of food antioxidant absorption. If bioactive compounds are absorbed PAC may be increased

Table 2 Antioxidant capacity in berries (ORAC, ABTS and DPPH methods)

Berries/genus and species	$\mu\text{mol Trolox/g}$ fresh weight	Ref
Bilberry (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	44.6 ¹	[4]
Blackberry (<i>Rubus fruticosus</i>)	35.5 ³	[12]
Blueberry (<i>Vaccinium corymbosum</i>)	14.0 ²	[68]
Cranberry (<i>Vaccinium macrocarpon</i>)	39.8 ¹	[69]
Lingonberry (<i>Vitis vitis-idea</i>)	31.8 ¹	[29]
Raspberry (<i>Rubus idaeus</i>)	25.3 ³	[36]
Redcurrant (<i>Ribes rubrum</i>)	36.9–93.0 ¹	[67]
Strawberry (<i>Fragaria x. ananassa</i>)	11.9 ²	[32]

ORAC Oxygen radical absorbance capacity¹ABTS 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)²DPPH 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl³

[30]. Table 3 illustrates the plasma antioxidant capacity in studies carried out with human volunteers [70–77]. Consumption of berries and their products as 100 g of freeze-dried blueberry or 240 g of strawberry produced similar increases in PAC by the ORAC method (15% and 14%, respectively) [70, 71]. On the other hand, 150 ml of grape juice produced increases in PAC of 30% by DCFH assay [72].

One of the main aims of aging research is the isolation and characterization of compounds that delay the onset of aging and thus may prolong lifespan. Among the life-prolonging benefits of resveratrol demonstrated in the study were increased insulin sensitivity, lowered blood glucose levels, enhanced mitochondrial energy production and improved motor function [78]. The expression of sirtuin genes is associated with aging and longevity. Resveratrol may affect the activation of sirtuin genes; for this reason, it may be an excellent candidate to be considered as an antiaging compound; but clinical research is necessary to elucidate the potential of this molecule for this function [79–81].

There is a growing need for innovative anticancer therapies; ongoing efforts are searching for novel and effective chemopreventive and chemotherapeutic drugs. Resveratrol has shown to exhibit *in vitro* as well as *in vivo* chemopreventive and chemotherapeutic activities. Many of the signaling pathways involving resveratrol have been evaluated and many of its targets and mechanisms of action have been identified. Indeed, resveratrol has shown chemopreventive and chemotherapeutic activities in all three stages of carcinogenesis (initiation, promotion, and progression) [82–84].

Bioavailability of Phenolic Constituents in Berries

Bioactivity depends in the concentration of a given specific component at a physiologically significant level at the

target site. The preventive or therapeutic action is affected by its pharmacokinetic properties (absorption, distribution, metabolism, and excretion); clinical pharmacokinetics of several phenolic compounds have been documented. The chemical structure of phenolics determines their rate and level of intestinal absorption and the nature of the metabolites circulating in the plasma. The absorption determines the compound's bioavailability, which is also influenced by the extent to which the compound reaches the circulatory system and is available at the site of action, as well as distribution of the compound into tissues and organs following absorption. Metabolism of the compounds commences as soon as the compounds enter the body, but the majority of them are metabolized in the liver by cytochrome P450 enzymes. It is noteworthy that the absorption of phenolic compounds, such as flavonoids from plant foods, is minimum given that the majority of flavonoids occurs in a glycosidic form [14, 87, 88].

Animal studies have been frequently used to investigate the bioavailability of phenolic compounds. Table 4 shows that some phenolic compounds in animals are rapidly absorbed and some not [14, 87–92]. Ellagic acid was absorbed in a short time, but not chlorogenic acid; this behavior may be due to absorption of ellagic acid in the upper part of the gut, in the stomach and small intestine. Chlorogenic acid is a caffeic acid ester linked to quinic acid, and there are no esterases in human tissues able to hydrolyze chlorogenic acid. In agreement with this, small intestine of rats metabolizes only a very small amount of chlorogenic acid. In the same way, colonic microflora is the only significant site for chlorogenic acid metabolism, because this phenolic acid or other acids bound to plant

Table 3 Plasma antioxidant capacity of berries and their products

Berries/product	Ingested amount	Assay	% PAC	Ref
Berry juice	400 ml	ABTS	30%	[73]
Strawberry	240 g	ORAC	14%	[71]
Red grape juice concentrate	125 ml	Chemil assay	8.4%	[77]
Grape juice	150 ml	DCFH assay	30%	[72]
Elderberry juice	400 ml	ABTS	17%	[74]
Grape	200 mg	ABTS	5%	[75]
Freeze dried wild blueberry	100 g	ORAC	15%	[70]
Grape seed extract	300 mg	ABTS	17%	[76]

PAC Plasma antioxidant capacity

ORAC Oxygen radical absorbance capacity

ABTS 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

DCFH 2',7'-dichlorofluorescein

Chemil Chemiluminescent

Table 4 Pharmacokinetic parameters of phenolics in animals

Animal	Phenolic compound	Administered form	Administered dose	Plasma C_{max}	T_{max} h	Urinary excretion ^{a)}	Ref
Rat	Gallic acid	Purified	100 μ mol/kg	0.71 μ mol/L	1.0	–	[87]
Rat	Ellagic acid	Pomegranate leaf extract	85.3 mg/kg	0.203 μ g/ml	0.5	–	[88]
Rat	Ferulic acid	Purified	5.15 mg/kg	1.68 μ M	0.5	43.4%	[89]
Rat	Chlorogenic acid	Purified	88.6 mg/day	113.4 μ M	12	58.8%	[14]
Rabbit	Anthocyanins	Blackcurrant	117 mg/kg	780 ng/ml	0.5	0.035%	[90]
Pig	Anthocyanins	Marion berry	74 mg	0.103 μ mol/L	1	0.088%	[91]
Pig	Anthocyanins	Blackcurrant	100 mg/kg	0.09 μ g/ml	2–4	–	[92]

C_{max} the maximum plasma concentration; T_{max} the time after administration of a drug when the maximum plasma concentration is reached, a) % of the administered dose

cell walls are also not released by mammalian endogenous enzymes but require to be hydrolyzed by enzymes (esterases and xylanases) of the colonic microflora. Gallic acid is absorbed in the rat stomach in the free form. Generally, absorption and bioavailability are affected by the structure of phenolic compounds (glycosylation, molecular weight and esterification) [85].

McGhie and Walton [91] applied a dose of 74 mg of the anthocyanin cyanidin-3-glucoside/kg of Marion berry to pigs, and reported maximum concentrations in plasma for the original compound (0.103 μ mol/L; T_{max} : 60 min), for methylated metabolites (<0.021 μ mol/L; T_{max} : 15–120 min), and for glucuronidated compounds (<0.07 μ mol/L; T_{max} : 15–60 min). The glucuronide and methylated conjugates of anthocyanins have found to be the two major types of metabolites that appear in urine in pigs. The urinary recovery of the original anthocyanins and their related metabolites was 0.088%. The aglycone and the sugar moieties interfered the absorption and metabolism of anthocyanins administered to pigs [91]. These data indicate that anthocyanins may be absorbed in the original or in some of the modified forms, which are generated by enzymatic transformation after their ingestion.

The number of human studies investigating the bioavailability of anthocyanins has increased over the last years and

these are illustrated in Table 5 [14, 86, 91, 94, 95]. Some phenolic compounds in humans are absorbed in a short-time and some not, with or without structure modifications. Similar results of the absorption time of gallic acid were obtained with the consumption of black tea and red wine. In a study involving healthy humans, when gallic acid was absorbed, whatever the form under which it was consumed (purified form, wine or tea), it was present under methylated and glucuronidated structures. When volunteers consumed 200 ml of black tea, gallic acid was rapidly detected in plasma at 1.4–1.5 h and its concentration (aglycone and metabolites) was 4.7 μ M. Cartron et al. [93] showed that gallic acid was found without structure modification in human plasma with a maximum concentration reached at < 1.5 h after red wine consumption; perhaps, the food matrix may have not influenced the bioavailability of gallic acid, however, more specific studies are needed to reflect the real situation at the cellular level of the phenolics in plant foods.

In the study cited before, Milbury and coworkers [95] investigated the bioavailability of chokeberry anthocyanins (721 mg, ingested dose); they measured a urinary excretion rate of 0.15% of the dose over a 2.8 h period. A rate much greater than in other studies. Malvidin-3-glucoside, an anthocyanin occurring in red grape juice was studied by Bub and coworkers [94]; after ingestion of 500 ml of red

Table 5 Pharmacokinetic parameters of phenolics in humans

Phenolic compound	Administered form	Administered dose	Plasma C_{max}	T_{max} h	Urinary excretion ^{a)}	Ref
Quercetin glucoside	Onion	64 mg	0.65 μ M	2.9	0.5%	[86]
Gallic acid	Black tea	50 mg	4.7 μ M	1.4–1.5	39.6%	[14]
Gallic acid	Red wine	4 mg	1.57 μ M	<1.5	–	[14]
Cyanidin-3-glucoside	Chokeberry	721 mg	0.096 μ mol/L	2.8	0.15%	[91]
Anthocyanins	Blueberry powder	1.2 g	0.029 μ mol/L	4	–	[91]
Malvidin-3-glucoside	Red grape juice	117 mg	2.8 nM	2	0.02%	[94]
Anthocyanins	Elderberry extract	720 mg	0.097 μ mol/L	1.2	0.6%	[95]

C_{max} the maximum plasma concentration; T_{max} the time after administration of a drug when the maximum plasma concentration is reached, a) % of the administered dose

grape juice (117 mg), this was found as the intact form in plasma (2.8 nM) and urine (0.02% of the ingested amount) of human volunteers.

Several reports [24, 47, 48, 78, 81, 82, 84] suggest that the effects of resveratrol are tissue specific. Dai and coworkers [96] showed that the stimulatory effect of resveratrol on proliferation of human mesenchymal cells is dose dependent. The concentration of resveratrol of 10^{-5} M was stimulative, whereas a resveratrol concentration of 10^{-4} M turned out to have an inhibitory effect on proliferation; this situation shows that clinical studies are needed to precise the specific dosage for each therapeutic activity.

Toxicity

The use of phenolic constituents as herbal supplements has raised concerns about toxicity. Phenolics may induce toxicity due to their prooxidant activity, apoptosis-inducing properties, and interaction with drug-metabolizing enzymes [97].

Toxicity studies [98] have been conducted to determine whether high doses of trans-resveratrol can be tolerated in the rat model. In a study, researchers administered daily a 20 mg/kg dose to male rats for 28 days. The study was performed using a dose of trans-resveratrol that is approximately 1,000-fold in excess of the average daily consumption of this phenolic compound. Feeding efficiency, hematological variables (red blood cells, white blood cells, and platelet counts), and clinical biochemical variables [glucose, cholesterol, triglycerides, high density lipoproteins (HDL)/low density lipoproteins (LDL), and liver enzymes], and pathology examinations (gross necropsy and histopathology) were monitored and compared to control rats. Trans-resveratrol treatment did not affect the results of the hematologic tests, or of the clinical biochemical evaluations except aspartate aminotransferase, which was 30% higher in the treated group than in the control group. Histopathologic examination of the organs obtained at autopsy did not reveal any alterations. These results support the view that repeated consumption of trans-resveratrol at this dosage (20 mg/kg of body weight per day) yielded no determinable toxicological effects, and that trans-resveratrol appears to have a large safety margin [98].

Early data on potential toxic effects of phenolics were derived mainly from *in vitro* studies and they involved toxicity considerations including their mitochondrial toxicity, cytotoxic and genotoxic effects [71, 97, 99]; however, other studies suggest that flavonoids are antimutagenic *in vivo*. This was the case in a large [100] study involving almost 10,000 subjects, which showed an inverse relationship between the intake of flavonoids, primarily quercetin,

and lung cancer incidence. It seems that biophenols show toxicity to rapidly proliferating cancer cells but are not toxic to normal cells. Indeed, no dietary intervention studies have reported a negative effect of biophenols although a significant proportion has shown no effect. No observable toxicity was reported for the administration of a mega-dose of 2 g kg⁻¹ body weight of grape seed proanthocyanidin extract in a toxicological study [97, 100].

Conclusions

The accumulated research experience, knowledge and practical methodology applications during the last years concerning bioactive berry compounds, in particular phenolic compounds, have increased a lot. It seems that research efforts will pay special attention to bioavailability of berries antioxidant compounds in particular, and to this type of compounds from other fruits in general, and also to more determined confirmation of their effects on consumer health. The biosynthetic capacity of the whole plants in relation to their secondary metabolites should be evaluated in a more careful way, especially concerning their outstanding nutraceutical potential. The utilization of antimicrobial activity of berry phenolic compounds as natural antimicrobial agents offers many opportunities for their use in food industry and medicine; the development of alternative approaches of berry compounds for the prevention and control of infections caused by bacteria resistant to antibiotics, will also be a very important issue for research priorities in the future. It is also our belief that plant breeding and genetic approaches at the interface with the synthesis of compounds for nutrition and health purposes should receive more emphasis and attention [101].

Acknowledgements We acknowledge financial support from CONACYT-Mexico to carry out this research. MLCC was supported by a scholarship from CONACYT-Mexico to pursue graduate studies.

References

- Nöthlings U, Schulze M, Weikert C, Boeing H, van der Schouw YT, Bamia C, Benetou V, Lagiou P, Krogh V, Beulens JWJ, Peeters PHM, Halkjaer J, Tjønneland A, Tumino R, Panico S, Masala G, Clavel-Chapelon F, de Lauzon B, Boutron-Ruault M, Vercambre MN, Kaaks R, Linseisen J, Overvad K, Arriola L, Ardanaz E, Gonzalez C, Tormo MJ, Bingham SA, Khaw KT, Key TJA, Vineis P, Riboli E, Ferrari P, Boffetta P, Bueno-de-Mesquita HB, Van der ADL, Berghlund G, Wirfält E, Hallmans G, Johansson I, Lund E, Trichopoulos A (2008) Intake of vegetables, legumes, and fruit, and risk of all-cause, cardiovascular, and cancer mortality in a European diabetic population. *J Nutr* 138:775–781
- Santos-Cervantes ME, Ibarra-Zazueta ME, Loarca-Piña G, Paredes-López O, Delgado-Vargas F (2007) Antioxidant and

- antimutagenic activities of *Randia echinocarpa* fruit. *Plant Foods Hum Nutr* 62:71–77
3. Timlin TM, Pereira AM (2007) Breakfast frequency and quality in the etiology of adult obesity and chronic diseases. *Nutr Rev* 65:268–281
 4. Szajdek A, Borowska JE (2008) Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: a review. *Plant Foods Hum Nutr* 63:147–156
 5. Nurmi T, Mursu J, Heinonen M, Nurmi A, Hiltunen R, Voutilainen S (2009) Metabolism of berry anthocyanins to phenolic acids in humans. *J Agric Food Chem* 57:2274–2281
 6. Alwerdt JL, Seigler DS, Gonzalez de Mejia E, Yousef GG, Lila MA (2008) Influence of alternative liquid chromatography techniques on the chemical complexity and bioactivity of isolated proanthocyanidin mixtures. *J Agric Food Chem* 56:1896–1906
 7. Seeram PN, Adams SL, Zhao Y, Lee R, Sand D, Scheuller SH, Heber D (2006) Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells *in vitro*. *J Agric Food Chem* 54:9329–9339
 8. Seeram PN (2008) Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease. *J Agric Food Chem* 56:627–629
 9. Kraft BT, Dey M, Rogers RB, Ribnick DM, Gipp DM, Cefalu WT, Raskin I, Lila MA (2008) Phytochemical composition and metabolic performance-enhancing activity of dietary berries traditionally used by native north Americans. *J Agric Food Chem* 56:654–660
 10. Maiani G, Castón PMJ, Catástia G, Toti E, Cambrodón GI, Bysted A, Lorencio GF, Alonso OB, Knuthsen A, Valodi M, Böhm V, Mielbach ME, Bensnilian D, Schlemmer U (2009) Carotenoids: actual knowledge on food sources intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Mol Nutr Food Res* 53:1–25
 11. Šavikin K, Zduñić G, Janković T, Tasić S, Menković N, Stević T, Dordević B (2009) Phenolic content and radical scavenging capacity of berries and related jams from certificated area in Serbia. *Plant Foods Hum Nutr* 64:212–217
 12. Sellappan S, Akoh CC, Krewer G (2002) Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *J Agric Food Chem* 50:2432–2438
 13. Zhao Z, Moghadasian MH (2008) Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: a review. *Food Chem* 109:691–702
 14. Lafay S, Gil-Izquierdo A (2008) Bioavailability of phenolic compounds. *Phytochem Rev* 7:301–311
 15. The World Health Report (2002) Reducing risks and promoting healthy life. Geneva, World Health Organization, 2002
 16. Stapleton AP, James EM, Goodwill GA, Frisbee JC (2008) Obesity and vascular dysfunction. *Pathophysiology* 15:79–89
 17. Delgado-Vargas F, Jiménez-Aparicio A, Paredes-López O (2000) Natural pigments: carotenoids, anthocyanins and betalains—characteristics, biosynthesis, processing and stability. *Crit Rev Food Sci Nutr* 40:173–289
 18. Benvenuti S, Pellati K, Melegari M, Bertell D (2004) Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of *Rubus*, *Ribes*, and *Aronia*. *J Agric Food Chem* 52:164–169
 19. Häkkinen SH, Törrönen AR (2000) Contents of flavonoids and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. *Food Res Int* 33:517–524
 20. Skupień K, Oszmiański J (2004) Comparison of six cultivars of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.) grown in northwest Poland. *Eur Food Res Technol* 219:66–70
 21. Kellogg J, Wang J, Flint C, Ribnick D, Kuhn P, de Mejia EG, Raskin I, Lila MA (2010) Alaskan wild berry resources and human health under the cloud of climate change. *J Agric Food Chem* 58:3884–3900
 22. Dietrich H, Rechner A, Patz CD (2004) Bioactive compounds in fruits and juice. *Fruit Process* 1:50–55
 23. Leiro J, Arraz JA, Parama A, Alvarez MF, Sanmartín ML (2004) *In vitro* effects of the polyphenols resveratrol, mangiferin and (-)-epigallocatechin-3-gallate on the scuticociliate fish pathogen. *Dis Aquat Org* 59:171–174
 24. Lee SK, Zhang W, Sanderson JS (2008) Selective growth inhibition of human leukemia and human lymphoblastoid cells by resveratrol via cell cycle arrest and apoptosis induction. *J Agric Food Chem* 56:7572–7577
 25. Oksman-Caldentey KM, Inzé D (2004) Plant cell factories in the post-genomic era: new ways to produce designer secondary metabolites. *Trends Plant Sci* 9:433–440
 26. Trethewey RN (2004) Metabolic profiling as an aid to metabolic engineering in plants. *Curr Opin Plant Biol* 7:196–201
 27. Beekwilder J, Hall RD, de Vos CH (2005) Identification and dietary relevance of antioxidants from raspberry. *Biofactors* 23:197–205
 28. Rommel A, Wrostad RE (1993) Ellagic acid content of red raspberry juice as influenced by cultivar, processing and environmental factors. *J Agric Food Chem* 41:1951–1960
 29. Zheng W, Wang YS (2003) Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries and lingonberries. *J Agric Food Chem* 51:502–509
 30. Fernández Panchón MS, Villano D, Troncoso MA, García Parrilla CM (2008) Antioxidant activity of phenolic compounds: from *in vitro* results to *in vivo* evidence. *Crit Rev Food Sci Nutr* 48:649–671
 31. Kähkönen PM, Hopia IA, Heinonen M (2001) Berry phenolics and their antioxidant capacity. *J Agric Food Chem* 49:4076–4082
 32. Kevers C, Falkowski M, Tabart J, Defraigne JO, Dommes J, Pincemail J (2007) Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. *J Agric Food Chem* 55:8596–8603
 33. Matta-Riihinen KK, Kamal EA, Torronen AR (2004) Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (family rosaceae). *J Agric Food Chem* 52:6178–6187
 34. Mattila P, Astola J, Kumpulainen J (2000) Determination of flavonoids in plant material by HPLC with diode-array and electro-array detections. *J Agric Food Chem* 48:5834–5841
 35. Häkkinen S, Heinonen M, Kärenlampi S, Mykkinen H, Ruuskanen J, Törrönen AR (1999) Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries. *Food Res Int* 32:345–353
 36. Wang S, Lin HS (2000) Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varieties with cultivar and developmental stage. *J Agric Food Chem* 18:140–146
 37. Wu XL, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz BD, Gebhardt ES, Prior LR (2006) Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *J Agric Food Chem* 54:4069–4075
 38. Koponen JM, Happonen AM, Mattila PH, Törrönen R (2007) Contents of anthocyanins and ellagitannins in selected foods consumed in Finland. *J Agric Food Chem* 55:1612–1619
 39. Pascual TS, Sanchez BMT (2008) Anthocyanins: from plant to health. *Phytochem Rev* 7:281–299
 40. Pawlowska AM, Olesker W, Braca A (2008) Qualitative analyses of flavonoids of *Morus nigra* L. and *Morus alba* L. (Moraceae) fruits. *J Agric Food Chem* 56:3377–3380
 41. Lyons M, Yu CH, Tomas RB, Cho SY, Reiboldt W, Lee J, van Breemen RB (2003) Resveratrol in raw and baked blueberries and bilberries. *J Agric Food Chem* 51:5867–5870

42. Rimando MA, Kalt W, Magee BJ, Dewey J, Ballington RJ (2004) Resveratrol, pterostilbene and piceatannol in *Vaccinium* berries. *J Agric Food Chem* 52:4713–4719
43. Wang Y, Catana F, Yang Y, Roderick R, Van Breemen RB (2002) An LC-MS method for analyzing total resveratrol in grape juice, cranberry juice and wine. *J Agric Food Chem* 50:431–435
44. Matsuda H, Kageura T, Morikawa T, Toguchida I, Harima S, Yoshikawa M (2000) Effects of stilbene constituents from rhubarb on nitric oxide production in lipopolysaccharide-activated macrophages. *Bioorg Med Chem Lett* 10:323–327
45. Park EK, Choo MK, Yoon HK, Kim DH (2002) Anti-thrombotic and anti-allergic activities of rhaponticin from *Rhei Rhizoma* are activated by human intestinal bacteria. *Arch Pharm Res* 25:528–533
46. Mizuno CS, Schrader KK, Rimando AM (2008) Algaicidal activity of stilbene analogues. *J Agric Food Chem* 56:9140–9145
47. Joseph JA, Fisher DR, Cheng V, Rimando AM, Hale SB (2008) Cellular and behavioral effects of stilbene resveratrol analogues: implications for reducing the deleterious effects of aging. *J Agric Food Chem* 56:10544–10551
48. Shalibaei M, Hari Kumar BK, Aggarwal BB (2009) Resveratrol addition: to die or not to die. *Mol Nutr Food Res* 53:115–128
49. Ehala S, Vaher M, Kaljurand M (2005) Characterization of phenolic profiles of northern European berries by capillary electrophoresis and determination of their antioxidant capacity. *J Agric Food Chem* 53:6484–6490
50. United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service. USDA database for the flavonoid content of selected foods. Washington, DC, 2003
51. Clifford MN (2000) Review. Anthocyanins: nature, occurrence and dietary burden. *J Sci Food Agric* 80:1063–1072
52. Kong JJ, Chia LS, Goh NK (2003) Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochem* 64:923–933
53. Shahidi F, Naczk M (1995) Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. CRC, Boca Raton, FL
54. Pappas E, Schaich M (2009) Phytochemicals of cranberries and cranberry products: characterization, potential health effects, and processing stability. *Crit Rev Food Sci Nutr* 49:741–781
55. Bodet C, Grenier D, Chandad F, Ofek I, Steinberg D, Weiss E (2008) Potential oral health benefits of cranberry. *Crit Rev Food Sci Nutr* 48:672–680
56. Howell AB (2002) Cranberry proanthocyanidins and the maintenance of urinary tract health. *Crit Rev Food Sci Nutr* 42:273–278
57. Burger O, Weiss E, Sharon N, Tabak M, Neeman I, Ofek I (2002) Inhibition of *Helicobacter pylori* adhesion to human gastric mucus by a high-molecular weight constituent of cranberry juice. *Crit Rev Food Sci Nutr* 42:279–284
58. Shmueli H, Burger O, Neeman I, Yahav J, Samra Z, Niv Y, Sharon N, Weiss E, Athamna A, Tabak M, Ofek I (2004) Susceptibility of *Helicobacter pylori* isolates to the antiadhesion activity of a high-molecular weight constituent of cranberry. *Diagn Microbiol Infect Dis* 50:231–235
59. Weiss EI, Houri-Haddad Y, Greenbaum E, Hochman N, Ofek I, Zakay-Rones Z (2005) Cranberry juice constituents affect influenza virus adhesion and infectivity. *Antiviral Res* 66:9–12
60. Winterbourn CC (2008) Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. *Nat Chem Biol* 4:278–286
61. Ames BN, Gold LS (1991) Endogenous mutagens and the causes of aging and cancer. *Mutat Res* 250:3–16
62. Liu RH, Hotchkiss JH (1995) Potential genotoxicity of chronically elevated nitric oxide: a review. *Mutat Res* 339:73–89
63. Seeram PN (2008) Berry fruits for cancer prevention: current status and future prospects. *J Agric Food Chem* 56:630–635
64. Chu YF, Sun J, Wu X, Liu RH (2002) Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables. *J Agric Food Chem* 50:7449–7454
65. Han X, Shen T, Lou H (2007) Dietary polyphenols and their biological significance. *Int J Mol Sci* 8:950–988
66. Liu RH (2004) Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *J Nutr* 134:3479S–3485S
67. Moyer AR, Hummer EK, Finn EC, Frei B, Wrolstad ER (2002) Anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus* and *Ribes*. *J Agric Food Chem* 50:519–525
68. Ogawa K, Sakakibara H, Iwata R, Ishii T, Sato T, Goda T, Shimoi K, Kumazawa S (2008) Anthocyanin composition and antioxidant activity of the crowberry (*Empetrum nigrum*) and other berries. *J Agric Food Chem* 56:4457–4462
69. Wada L, Ou B (2002) Antioxidant activity and phenolic content of Oregon cranberries. *J Agric Food Chem* 50:3495–3500
70. Kay CD, Holub BJ (2002) The effect of wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) consumption on postprandial serum antioxidant status in human subjects. *Br J Nutr* 88:389–397
71. Cao G, Sofic E, Prior RL (1997) Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radic Biol Med* 22:749–760
72. Ko SH, Choi SW, Ye SK, Cho BL, Kim HS, Chung MH (2005) Comparison of the antioxidant activities of 9 different fruits in human plasma. *J Med Food* 8:41–46
73. Netzel M, Strass G, Kaul C, Bitsch I, Dietrich H, Bitsch R (2002) *In vivo* antioxidative capacity of a composite berry juice. *Food Res Int* 35:213–216
74. Netzel M, Strass G, Herbst M, Dietrich H, Bitsch R, Bitsch I, Frank T (2005) The excretion and biological antioxidant activity of elderberry antioxidants in healthy humans. *Food Res Int* 38:905–910
75. Vinson JA, Proch J, Bose P (2001) Manganate gold grape seed extract: *in vitro* antioxidant and *in vivo* human supplementation studies. *J Med Food* 4:17–26
76. Vinson JA, Su X, Zubik L, Bose P (2001) Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. *J Agric Food Chem* 49:5315–5321
77. Day AP, Kemp HJ, Bolton C, Hartog M, Stansbie D (1997) Effect of concentrated red grape juice consumption on serum antioxidant capacity and low-density lipoprotein oxidation. *Ann Nutr Metab* 41:353–357
78. Barger JL, Kayo T, Vann JM, Arias EB, Wang J, Hacker JD, Wang Y, Raederstorff D, Morrow JD, Leeuwenburgh C, Allison DB, Saupe KW, Cartee GD, Weindruch R, Prolla TA (2008) A low dose of dietary resveratrol partially mimics caloric restriction and retards aging parameters in mice. *PLoS ONE* 3:e2264
79. Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, Lamming DW, Lavu S, Wood JG, Zipkin RE, Chung P, Kisilevski A, Zhan LL, Xcherer B, Sinclair DA (2003) Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature* 425:191–196
80. Wood JG, Rogina B, Lavu S, Howitz K, Helfand SL, Tatar M, Sinclair D (2004) Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature* 430:686–689
81. Valenzano DR, Terzibasi E, Genade T, Cattaneo A, Domenici L, Cellierino A (2006) Resveratrol prolongs lifespan and retards the onset of age-related markers in a short-lived vertebrate. *Curr Biol* 16:296–300
82. Aggarwal BB, Bhardwaj A, Aggarwal RS, Seeram NP (2004) Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res* 24:2783–2840
83. Surh YJ (2003) Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nat Rev Cancer* 3:768–780
84. Shankar S, Singh G, Srivastava RK (2007) Chemoprevention by resveratrol: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Front Biosci* 12:4839–4854
85. Scalbert A, Williamson G (2000) Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr* 130:2073S–2085S

86. Tucker G, Robards K (2008) Bioactivity and structure of biophenols as mediators of chronic diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr* 48:929–966
87. Konishi Y, Hitomi Y, Yoshioka E (2004) Intestinal absorption of *p*-coumaric and gallic acids in rats after oral administration. *J Agric Food Chem* 52:2527–2532
88. Lei F, Xing DM, Zhao YN, Zhang LJ, Du LJ (2003) Pharmacokinetic study of ellagic acid after oral administration of pomegranate leaf extract. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 796:189–194
89. Rondini L, Peyrat-Maillard MN, Marsset-Baglieri A, Berset C (2002) Sulfated ferulic acid is the main *in vivo* metabolite found after short-term ingestion of free ferulic acid in rats. *J Agric Food Chem* 50:3037–3041
90. Nielsen LF, Dragsted LO, Ravin-Haren G, Freese R, Rasmussen SE (2003) Absorption and excretion of black currant anthocyanins in humans and Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *J Agric Food Chem* 51:2813–2820
91. McGhie TK, Walton MC (2007) The bioavailability and absorption of anthocyanins: towards a better understanding. *Mol Nutr Food Res* 51:702–713
92. Walton MC, Hendriks WH, Reynolds GW, Kruger MC, McGhie TK (2006) Anthocyanin absorption and plasma antioxidant status in pigs. *J Agric Food Chem* 54:7940–7946
93. Cartron E, Fourret G, Carbonneau MA, Lauret C, Michel F, Monnier L, Descomps B, Leger CL (2003) Red-wine beneficial long-term effect on lipids but not on antioxidant characteristics in plasma in a study comparing three types of wine-description of two O-methylated derivatives for gallic acid in humans. *Free Radic Res* 37:1021–1035
94. Bub A, Watzl B, Heeb D, Rechtkemmer G, Briviba K (2001) Malvidin-3-glucoside bioavailability in humans after ingestion of red wine, de-alcoholized red wine and red grape juice. *Eur J Nutr* 40:113–120
95. Milbury PE, Cao G, Prior RL, Blumberg JB (2002) Bioavailability of elderberry anthocyanins. *Mech Ageing Dev* 123:997–1006
96. Dai Z, Li Y, Quarles LD, Song T, Pan W, Zhou H, Xiao Z (2007) Resveratrol enhances proliferation and osteoblastic differentiation in human mesenchymal stem cells via ER-dependent ERK1/2 activation. *Phytomedicine* 14:S06–S14
97. Knekt P, Jarvinen R, Seppanen R, Heliovaara M, Teppo L, Pukkala E, Aromaa A (1997) Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *Am J Epidemiol* 146:223–230
98. Juan ME, Vinardell MP, Planas JM (2002) The daily oral administration of high doses of trans-resveratrol to rats for 28 days is not harmful. *J Nutr* 132:257–260
99. Elbling L, Weiss RM, Teufelhofer O, Uhl M, Knasmueller S, Schulte-Hermann R, Berger W, Micksche M (2005) Green tea extract and (–)-epigallocatechin-3-gallate, the major tea catechin, exert oxidant but lack antioxidant activities. *FASEB J* 19:807–809
100. Kroon P, Williamson G (2005) Polyphenols: dietary components with established benefits to health? *J Sci Food Agric* 85:1239–1240
101. Cuevas-Rodríguez EO, Yousef GG, García-Saucedo PA, López-Medina J, Paredes-López O, Lila MA (2010) Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in wild and domesticated Mexican blackberries (*Rubus* spp.). *J Agric Food Chem*. doi:10.1021/jf101485r

Texto de chegada 1

Bagas: Melhorar a saúde humana, proporcionando um envelhecimento saudável e qualidade de vida

Resumo: A importância da dieta na saúde humana tem aumentado o interesse dos consumidores no que diz respeito a alimentos nutricionalmente ricos, especialmente a frutos e vegetais. As bagas são fontes ricas em uma alargada variedade de fenóis antioxidantes; estes fitoquímicos incluem flavonoides, stilbenos, taninos e ácidos fenólicos. É através duma série de processos fisiológicos que são produzidos espécies reativas oxidantes e radicais livres. Além das defesas antioxidantes produzidas no corpo, há fontes exógenas fornecidas pela alimentação; entre outros, é este o caso das bagas. A insuficiência de mecanismos de defesa antioxidantes está associada à patologia de distúrbios crónicos tais como doenças cardiovasculares, inflamação e diabetes. Desta forma, o reforço daqueles mecanismos é de extrema importância. A identificação e caracterização dos compostos que podem atrasar o processo de envelhecimento é numa área que tem vindo a receber enorme atenção em investigação; alguns fenóis das bagas estão a ser associados a este desempenho funcional. Os fenóis das bagas podem também ter ação antimicrobiana que poderá ajudar no controlo de espectros selvagens de patogénicos, tendo em vista

os problemas recentes associados à resistência aos antibióticos. A maioria dos estudos realizados sobre a atividade dos constituintes bioativos das bagas tem sido levado a cabo através de ensaios *in vitro*. Assim, tem sido dada mais atenção às investigações humanas de biodisponibilidade e potencial de toxicidade dos fenóis. Finalmente, gostaríamos de enfatizar a necessidade de associar novas culturas e estudos genéticos das bagas à expressão e superexpressão de compostos para a saúde humana e para o envelhecimento saudável.

Palavras-chave: Frutos, Atividade Antioxidante, Bioatividade, Propriedades Farmacocinéticas, Efeitos Benéficos, Vida Saudável.

Abreviaturas:

ABTS (**Ácido 2,2'-azino-bis**(3-etilbenzotiazolina6-sulfónico))

C_{max} Concentração máxima no plasma

DCFH 2',7'- diclorofluoresceína

DPPH 2,2- difenil-1-picril-hidrazil

FRAP poder férrico de redução antioxidante

HDL lipoproteínas de alta densidade

LDL lipoproteínas de baixa densidade

ORAC capacidade de absorção de radicais de oxigénio

PAC capacidade antioxidante do plasma

ROS espécies reativas de oxigénio

T_{max} Tempo após administração de droga quando é atingida a concentração máxima de plasma

Introdução:

A relação entre a saúde e o regime alimentar tem feito aumentar a busca de informação, por parte dos consumidores, sobre dietas nutricionalmente ricas, que incluam frutos e vegetais. [1, 2]. Os seus constituintes bioativos proporcionam efeitos benéficos para a saúde humana e previnem doenças crônicas [3]. As bagas podem ser uma das componentes de dietas saudáveis porque contêm uma grande variedade de compostos fenólicos [4-6]; amora (*Rubus* sp.), mirtilo (*Vaccinium myrtillus*), groselha preta (*Ribes rugrum*), arando (*V. corymbosum*), aronia (*Aronia melanocarpa*), oxococo (*V. macrocarpon*), myrica cerífica (*Myrica* sp.), framboesa (*R. ideaus*), framboesa negra (*R. occidentalis*) e morango (*Fragaria ananassa*) são frequentemente consumidos frescos ou transformados; curiosamente, são as bagas, fontes excepcionalmente ricas em fenóis antioxidantes [7, 8]. Os compostos fenólicos são o maior grupo de fitoquímicos das bagas, incluindo flavonoides (antocianinas, flavonóis, flavonenas, flavanóis, flavanonas, and isoflavonoides), stilbenos, taninos e ácidos fenólicos [8]. Vários estudos têm demonstrado que fatores bióticos e abióticos desempenham um papel importante na concentração de compostos fenólicos nas bagas e na sua capacidade antioxidante [9-12]. Os fenóis contribuem para a proteção contra doenças degenerativas e os seus efeitos na saúde têm sido atribuídos às suas propriedades antioxidantes. Aprofundar o nosso conhecimento sobre a sua biodisponibilidade é um passo importante para compreender os mecanismos possíveis dos seus efeitos na saúde e para caracterizar o impacto das bagas numa vida humana saudável [13,14]

Este estudo sintetiza dados relacionados

com a capacidade antioxidante das bagas *in vitro*, enfatizando o papel dos fenóis. Além disso, descreve-se a importância e as atividades biológicas dos fenóis nas bagas enquanto promotoras da saúde humana. São, ainda, discutidos dados recolhidos em estudos sobre a biodisponibilidade incluindo o consumo dietético, metabolismo e propriedades farmacocinéticas.

Componentes fenólicas nas bagas

As bagas são fontes ricas em fenóis, tais como, ácidos fenólicos, flavonoides, stilbenes e taninos. Os fenóis das bagas possuem um ou mais anéis aromáticos com grupos hidroxilos. São classificados pelas suas características estruturais como ácidos fenólicos, stilbenos, flavonoides (flavanóis ou catequinas, flavonóis, flavonas, flavanonas, isoflavonoides, antocianinas), taninos e lignantes [8, 65, 66]. A classificação dos constituintes fenólicos está ilustrada na figura 1.

Nos últimos anos, várias pesquisas têm sido direcionadas para o estudo das componentes bioativas das bagas, a sua caracterização e utilização em alimentos funcionais e as suas propriedades benéficas para a saúde humana, com base em avaliações clínicas (Fig. 2). A Organização Mundial de Saúde (OMS) enfatiza a importância da atividade antioxidante das componentes fenólicas, especialmente dos frutos pequenos e coloridos, para prevenção dos mais importantes problemas de saúde, nomeadamente doenças cardiovasculares, diabetes, cancro e obesidade [15, 16]. Muitos dos compostos fenólicos das bagas são responsáveis pela cor (i. e. antocianinas) e sabor (i. e. taninos) [17]. Alguns fatores, tais como espécie, variedade, região geográfica, condições de

armazenamento, maturação, clima e outros podem afetar a concentração dos fenóis nas bagas [18-21]. As componentes fenólicas protegem as plantas contra fatores adversos tais como, infecções, dano físico, radiação UV entre outros [18, 22]. Por exemplo, a pele das uvas frescas contém resveratrol; este stilbene serve como fitotoalexina. A principal função do resveratrol é proteger as plantas contra infecções fúngicas, especialmente contra a infecção de *Botrytis cinerea* [23, 24].

Há evidências que confirmam os níveis superiores de conteúdos fenólicos e capacidade antioxidante das bagas selvagens comparadas com aquelas de cultura caseira e modificadas geneticamente [9]. São impressionantes os conteúdos em antocianina e fenóis e capacidade antioxidante de espécies selvagens (*rubus* e *ribes*) bem como o germoplasma das bagas escuras; esta situação deve-se maioritariamente às condições de cultura e o stress ambiental, entre outros fatores [25,25].

Por outro lado, o maior contributo para a capacidade antioxidante das bagas do género *rubus* e *fragária* é a de *ellagitanninos*, que representa entre 51% e 88% de todos os compostos fenólicos; o nível nos frutos vermelhos comparado com o dos frutos vermelhos completamente maduros, pode ser mais do que 50% inferior. Estas diferenças são muito relevantes para determinar a melhor altura para as colheitas. Isto indica que condições de desenvolvimento, incluindo o stress, podem afetar os antioxidantes da framboesa e deveria ser usado para avaliar os níveis de antioxidante na altura da colheita [27]. Além disso, as bagas podem ter o triplo de ellagitanninos das nozes-pecãs e nozes e cerca de 15 vezes mais que outros frutos e frutos secos [27,28].

Os conteúdos de fenóis, flavonoides e

antocianinas nas espécies de bagas estão representados na Tabela 1. Groselhas, amora preta e mirtilo mostram um elevado e marcante quantidade de fenóis [4,10,29,31], flavonoides [9,33,34] e antocianinas [30].

Os stilbenos são pequenos compostos fenólicos naturais que ocorrem numa grande variedade de alimentos vegetais; as bagas são uma importante fonte destes. Resveratrol, pterostilbeno e piceatannol são stilbenos encontrados em *deerberry*¹, amoras alpinas, arando, e airela vermelha [41-43]. Um elemento análogo ao resveratrol, o pterostilbeno, é um antioxidante mais potente e um agente quimiopreventivo mais forte do que o resveratrol [43]. Resveratrol e os seus análogos apresentam importantes propriedades biológicas incluindo anti-inflamatórias, antialérgicas, antienvelhecimento, algicida, antimutagénicas anticancerígenas e outras [44-48].

Os flavonóis quercetinas e kaempferol estão largamente distribuídos nos frutos, mas são particularmente abundantes nas bagas como os mirtilos (4,13-13 mg/100g de fruta fresca) oxococo (21-21,96mg/100g de fruta fresca) e aronia (8,9-89mg/100g de fruta fresca) [33, 35, 49, 50].

As antocianinas são um grupo importante de fenóis nas bagas: são responsáveis pela sua pigmentação. Estes pigmentos encontram-se na pele dos frutos. Na célula, as antocianinas encontram-se em vacúolos chamados antocianoplast [17, 39, 51, 52]. A antocianina principal encontrada na maioria dos frutos é a cyanidin-3-glucoside. Os derivados de Malvidina glycosidica são comumente encontrados nas uvas

¹ Baga proveniente de estados Norte Americanos para a qual não há equivalente em português.

vermelhas e produtos derivados; e a cianidin foi identificada em alguns tipos de bagas: aronia preta, bagas de sabugueiro e algumas bagas do género *Rubus* que incluem as amoras pretas [39,54].

Ácidos caféicos e ferúlicos são os ácidos fenólicos mais comuns nas bagas e raramente se encontram em forma livre; em geral, encontram-se esterificados ou agregados a outras moléculas como hidratos de carbono e ácidos orgânicos. Os ésters mais comuns de ácidos

hidroxicinâmicos são os ácidos clorogénicos derivativos (ésteres de ácidos caféico e quinico). A aronia (*Aronia melanocarpa*) é caracterizada por ter grandes quantidades de derivativos hidroxicinâmicos tais como ácido clorogénico [53]. Os ésters de hidroxicinamato estão presentes em oxicocos inteiros em quantidades médias de cerca de 15mg/100g de frutos frescos[54].

Tabela 1 Fenólicos totais, flavonoides e antocianinas existentes nas bagas

Bagas/géneros e espécies	Fenóis mg/g Peso	Flavonoides mg/g Peso	Antocianinas mg/g Peso	Ref
Mirtilo (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	525	44	300	[4, 19]
Amora negra (<i>Rubus fruticosus</i>)	486	276	82-326	[12, 36]
Arando (<i>Vaccinium corymbosum</i>)	261-585	50	25-495	[12, 20, 30]
Oxicoco (<i>Vaccinium macrocarpon</i>)	315	157	67-140	[29, 33, 37]
<i>Vitis vitis-idea</i>	652	74	77	[29, 34, 36]
Framboesa (<i>Rubus ideaous</i>)	121	6,0	99	[28, 33, 38]
Groselha (<i>Ribes rubrum</i>)	1400	9,0	22	[31, 32, 39]
Morango (<i>Fragaria x. ananassa</i>)	313	-	54	[32, 40]

Fenóis das bagas, efeitos biológicos e saúde humana

Alguns estudos indicam que os compostos biofenólicos podem agir como um novo tipo de antimicrobiais que podem controlar o largo espectro dos patogénicos

e podem resolver problemas de resistência antibiótica. Hoje em dia, os consumidores estão muito interessados na sua saúde pessoal e desejam que os alimentos sejam atraentes e também seguros e saudáveis. Nos últimos anos, experiências *in vitro* e estudos clínicos focaram

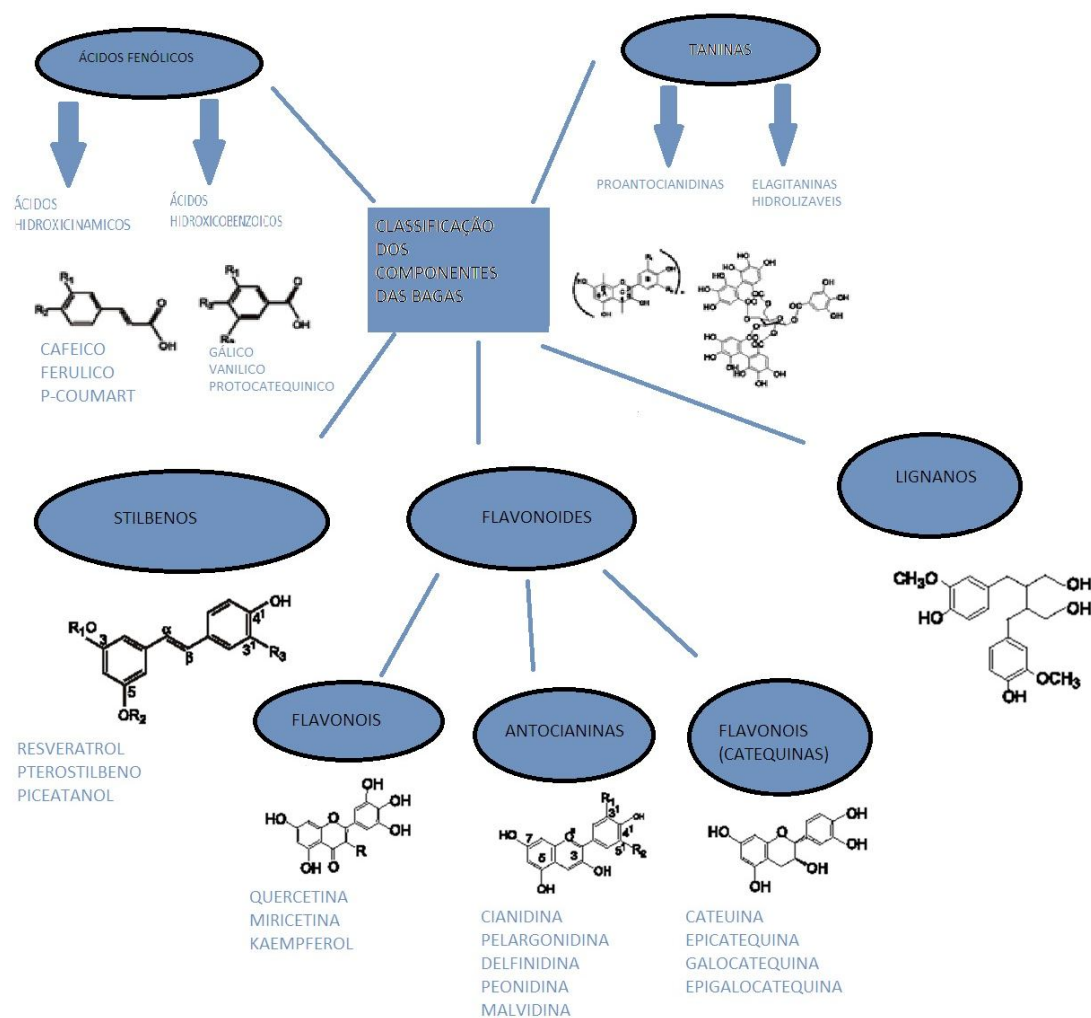


Fig1 Componentes fenólicos em bagas selecionadas

determinados efeitos microbióticos dos fenóis dos oxícos [55]; taninos condensados de oxíco podem inibir a adesão de *Escherichia coli* uropatogeo fimbriado a células uroepiteliais no percurso urinário [56, 57]. Alguns extratos de oxíco têm sido referidos por inibir a aderência da *E. coli* uropatogeo assim como a inibição da *adesin sialic-acid-specific* de *Helicobacter pylori* à mucosa gástrica humana, um passo crítico no desenvolvimento de úlceras gástricas [58]. Os extratos de oxíco contêm matérias de alto peso molecular que inibem a adesão viral e infectividade dos vírus da gripe A e B [59]; estes estudos foram apoiados por experimentação clínica mostrando que o consumo regular de oxíco e dos seus produtos pode suprimir

infecções urinárias, infecções *H. pylori* em populações epidemicamente afetadas e infecções do vírus da gripe e podem ainda ter potencial terapêutico.

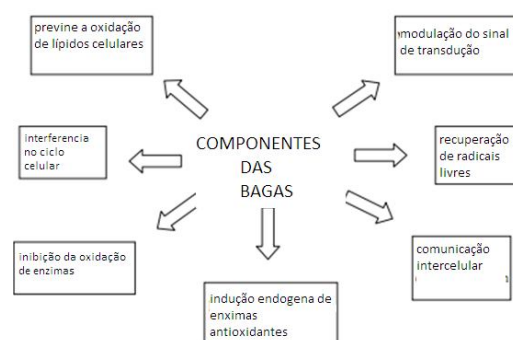


Fig. 2 propriedades dos efeitos benéficos no suporte de saúde das bagas

Por outro lado, espécies oxidantes reativas (EOR) e radicais livres são produzidos numa extensa série de processos fisiológicos. O stress oxidativo é um

desequilíbrio entre a produção de EOR e as defesas antioxidantes e pode levar a degradação oxidativa. Esta condição biológica pode resultar de uma insuficiência dos mecanismos de defesa antioxidantes, produção intensa de EOR, e ativação excessiva de sistemas de EOR, que estão implicados no envelhecimento e na patologia de várias doenças crônicas, incluindo cancro, doenças cardiovasculares, inflamação, diabetes, doenças de Parkinson e Alzheimer e outras patologias [60-62]. Com o intuito de confrontar o stress oxidativo, o corpo humano tem desenvolvido mecanismos para manutenção de *redox homeostasis*. Estes mecanismos incluem defesas antioxidantes enzimáticas e não-enzimáticas produzidas no corpo, ou seja, endógenas e outras adquiridas pela alimentação, nomeadamente exógenas. Os antioxidantes exógenos incluem os ácidos fenólicos, flavonoides, stilbenos e taninos [8, 62, 65]. Os compostos fenólicos demonstram mecanismos de ação biologicamente significantes, tais como, remoção ou deterioração de EOR, bloqueio da produção de EOR, impacto no ciclo de células, supressão de tumores, modulação de sinal de transdução, apoptose, enzimas desintoxicantes e metabolismo (Fig. 2) [65, 66].

A atividade antioxidante dos constituintes bioativos das bagas tem vindo a ser avaliada através de ensaios *in vitro*, que medem a capacidade de reduzir e neutralizar os radicais livres; o seu potencial enquanto antioxidantes é normalmente medido através da comparação com uma substância de referência, comumente Trolox (nome comercial de 6-hidroxido – 1,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico – id, um

derivado solúvel de vitamina E). Os fenóis têm sido vistos como antioxidantes fortes que parecem ser mais potentes que os carotenoides, e as vitaminas E e C. a capacidade antioxidante das bagas tem sido estudada usando o método de capacidade de absorção de radicais de oxigénio (ORAC), métodos de ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS+), poder férrico de redução antioxidante (FRAP), e 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH).

A capacidade antioxidante destes frutos é apresentada na Tabela 2. Refere-se no ensaio de ORAC que a groselha possui uma elevada atividade antioxidante. No caso da técnica de DPPH, a amora negra demonstra uma elevada atividade deste tipo e o arando no ABTS+ [10, 67, 68].

As concentrações de antioxidantes no plasma (PAC) incluem a ação de compostos antioxidantes da alimentação e outros compostos endógenos (defesas enzimáticas e não enzimáticas no corpo), e, ao mesmo tempo, são modeladas pela produção de espécies de radicais de oxigénio; a avaliação da concentração de fenóis intactos no plasma é considerada um biomarcador da absorção de antioxidantes alimentares. Se os compostos bioativos forem absorvidos, os PAC podem aumentar [30].

Tabela 2 Capacidade antioxidante das bagas (métodos ORAC, ABTS and DPPH)

Bagas/gêneros e espécies	μmol Trolox/g peso	Ref.
Mirtillo (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	44,6 ¹	4
Amora negra (<i>Rubus fruticosus</i>)	35,5 ³	12
Arando (<i>Vaccinium corymbosum</i>)	14,0 ²	68
Oxicoco (<i>Vaccinium macrocarpon</i>)	39,8 ¹	69
Vitis vitis-idea	31,8 ¹	29
Framboesa (<i>Rubus idaeus</i>)	25,3 ³	36
Groselha (<i>Ribes rubrum</i>)	36,9-93,0 ¹	67
Morango (<i>Fragaria x. ananassa</i>)	11,9 ¹	32

¹ ORAC Capacidade de absorção de radicais oxigênio

² ABTS 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

³ DPPH 2,2-difenil-1-picril-hidrazil

A Tabela 3 ilustra a capacidade antioxidante do plasma em estudos levados a cabo em voluntários humanos [70-77]. O consumo de bagas e dos produtos derivados, como 100g de arando congelado ou 240g de morangos, produziram um aumento semelhante no PAC pelo método ORAC (15% e 14% respetivamente) [70,71]. Por outro lado, 150ml de sumo de uva produz um aumento dos PAC de 30% pelo método do ensaio DCFH [72].

Um dos objetivos principais das pesquisas sobre envelhecimento é o isolamento e caracterização dos compostos que atrasam o envelhecimento e, assim, aumentam a esperança de vida. Entre os benefícios do resveratrol no prolongamento da vida, demonstrados no estudo, situava-se o aumento de sensibilidade à insulina, a diminuição dos níveis de glucose no sangue, melhoria na produção de energia mitocondrial e melhoria de função motora [78]. A expressão das sirtuínas está associada ao envelhecimento e à longevidade. O resveratrol pode afetar a ativação das sirtuínas; por esta razão, pode ser um excelente candidato a componente antienvelhecimento; mas são necessárias pesquisas clínicas para clarificar o potencial desta molécula para essa função

[79-81].

Sente-se uma crescente necessidade de terapias anticâncer inovadoras; estão a ser desenvolvidos esforços na pesquisa de medicamentos novos e eficientes tanto quimiopreventivos quanto quimioterapêuticos. O resveratrol tem revelado a existência de atividades quimioterapêuticas e quimiopreventivas *in vitro*. Muitas das vias de sinalização envolvendo o resveratrol têm sido avaliadas e muitos dos seus alvos e mecanismos têm sido identificados. Na verdade, o resveratrol tem mostrado atividade quimiopreventiva e quimioterapêutica nas três fases da carcinogénese (iniciação, promoção e progressão) [82-84].

Biodisponibilidade dos constituintes fenólicos nas bagas

A bioatividade depende da concentração de uma determinada componente num nível fisiologicamente significativo do seu alvo. A ação preventiva e terapêutica é afetada pelas propriedades farmacocinéticas (absorção, distribuição, metabolismo e excreção); têm sido documentadas farmacocinéticas clínicas de vários compostos fenólicos. A estrutura química dos fenólicos determina a sua taxa e nível de absorção intestinal e a natureza dos metabolitos que circulam no plasma. A absorção determina a biodisponibilidade da componente, que também é influenciada pelo grau em que este entra no sistema circulatório e fica disponível no local de ação, bem como pela distribuição da componente em tecidos e órgãos depois da absorção. O metabolismo das componentes inicia-se assim que estes entram no corpo, mas a maioria deles é

metabolizada no fígado por enzimas citocromo. É de ter em conta que a absorção das componentes fenólicas, tais como dos flavonoides dos vegetais, é mínima dado que a maioria dos flavonoides ocorre sob forma glicosídica [14, 87, 88].

Têm sido frequentemente usados estudos sobre animais para investigar a biodisponibilidade dos compostos fenólicos. A tabela 4 mostra que algumas componentes fenólicas nos animais são rapidamente absorvidas e outras não [14, 87-92]. O ácido elágico foi absorvido em pouco tempo, mas o mesmo não aconteceu com o ácido clorogénico; este comportamento pode dever-se à absorção do ácido elágico numa parte superior do intestino, no estômago e no intestino

delgado.

O ácido clorogénico é uma estirpe do ácido caféico ligado ao ácido quínico, e não há esterases no tecido humano capaz de hidrolisar o ácido clorogénico. De acordo com isto, o intestino delgado dos ratos metaboliza apenas uma pequena quantidade do ácido clorogénico. Da mesma forma, a microflora do cólon é a única localização significativa para o metabolismo de ácido clorogénico porque este ácido fenólico ou outros ácidos que podem formar as paredes das células também não são libertados pelas enzimas endógenas dos mamíferos mas precisam ser hidrolisadas por enzimas (esterases e xilanases) da microflora do cólon.

Tabela 3 capacidade antioxidante no plasma das bagas e seus produtos

Bagas/produto	quantidade ingerida	ensaio	%pac	ref
Sumo de baga	400ml	ABTS	30%	[73]
Morango	240g	ORAC	14%	[71]
Sumo concentrado				
de uva tinta	125ml	ensaio Chemil	8,4%	[77]
Sumo de uva	150ml	DCFH ensaio	30%	[72]
Sumo de baga				
de sabugueiro	400ml	ABTS	17%	[74]
Uvas	200mg	ABTS	5%	[75]
Arando selvagem				
congelado	100g	ORAC	15%	[70]
Extrato de semente				
de uva	300mg	ABTS	17%	[76]

PAC Capacidade antioxidante do plasma

ORAC Capacidade de absorção de radicais de oxigénio

ABTS 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolína6-ácido sulfónico)

DCFH 2',7'-diclorofluoresceína

Quimioluminescência

Tabela 4 parâmetros farmacocinéticos fenólicos em animais

Animal	componente fenólica	forma administrada	dose administrada	Plasma C_{max}	T_{max} h	excreção urinária	ref
rato	ácido gálico	puro	100 μ mol/kg	0,71 μ mol/L	1,0	-	[87]
rato	ácido elágico	extrato de folha de romã	85,3 mg/kg	0,203 μ g/ml	0,5	-	[88]
rato	ácido ferúlico	puro	5,15 mg/kg	1,68 μ M	0,5	43,4%	[89]
rato	ácido clorogénico	puro	88,6 mg/dia	113,4 μ M	12	58,8%	[14]
coelho	antocianinas	groselha negra	117 mg/kg	780 ng/ml	0,5	0,035%	[90]
porco	antocianinas	baga marion	74 mg	0,103 μ mol/L	1	0,088%	[91]
porco	antocianinas	groselha negra	100 mg/kg	0,09 μ g/ml	2-4	-	[92]

C_{max} the maximum plasma concentration; T_{max} the time after administration of a drug when the maximum plasma concentration is reached, a)% of the administered dose

O ácido gálico é absorvido no estômago dos ratos na sua forma livre. Em geral, a absorção e a biodisponibilidade são afetadas pela estrutura dos compostos fenólicos (glicosilação, peso molecular e esterificação) [85].

McGhie e Walton [91] aplicaram uma dose de 74mg de antocianina cianidina-3-glucoside/kg de baga Marion a porcos, e relataram concentrações máximas no plasma por componentes originais (0,103 μ mol/L; T_{max} : 60 min) por metabolitos metilados (<0.021 μ mol/L; T_{max} : 15- 120 min) e por componentes glucuronidados (<0.07 μ mol/L; T_{max} : 15-60 min). A glucuronida e as conjugações metiladas de antocianinas foram consideradas os dois mais importantes tipos de metabolitos que aparecem na urina dos porcos. A recuperação urinária da antocianina original e seus metabolitos relacionados foi de 0,088%. A aglicone e as moléculas do açúcar interferem com a absorção e metabolismo das antocianinas administradas aos porcos [91]. Estes dados indicam que as antocianinas podem ser absorvidas na forma original ou em qualquer forma modificada, gerada pela

transformação enzimática depois da ingestão.

Tem aumentado nos últimos anos o número de estudos sobre humanos que investigam a biodisponibilidade de antocianinas, os quais são ilustrados na Tabela 5 [14, 86, 91, 94, 95]. Algumas componentes fenólicas nos humanos são absorvidas num curto espaço de tempo e outras não, tenham ou não modificações estruturais. Obtiveram-se resultados semelhantes do tempo de absorção do ácido gálico pelo consumo de chá preto e vinho tinto. Num estudo que envolve humanos saudáveis, quando o ácido gálico foi absorvido, sob qualquer forma (purificado em vinho ou chá) ficava presente em estruturas metiladas e glucuronizadas. Quando os voluntários consumiram 200ml de chá preto o ácido gálico foi rapidamente detetado no plasma em 1,4-1,5h e a sua concentração (anglicone e metabolita) foi de 4.7 μ M. Cartron et al. [93] mostraram que o ácido gálico foi encontrado sem modificação estrutural no plasma humano com o máximo de concentração a atingir <1,5h após o consumo de vinho tinto; talvez a

matriz dos alimentos não tenha influenciado a biodisponibilidade do ácido gálico, contudo são necessários mais estudos específicos para verificar a situação real a nível celular dos fenólicos em plantas alimentícias.

No estudo citado anteriormente, Milbury e os seus colaboradores [95] investigaram a biodisponibilidade das antocianinas de aronia (721mg, dose ingerida); eles

mediram a taxa de excreção urinária de 0,15% da dose num período de 2,8h. A taxa era muito superior à de outros estudos. A Malvidin-3-glucosida, uma antocianina que ocorre no sumo de uvas tintas, foi estudada por Bub e seus colaboradores [94]; após a ingestão de 500ml de sumo de uvas tintas (117mg) esta foi encontrada de forma intacta no plasma (2,8 nM) e na urina (0,02% da quantidade ingerida) dos voluntários humanos.

Tabela 5 parâmetros farmacocinéticos de fenólicos em humanos

Componente fenólica	Forma administrada	Dose administrada	Plasma C_{max}	T_{max} h	Excreção urinária	Ref
Queratina glicosídica	cebola	64 mg	0,65 μ M	2,9	0,5%	[86]
Ácido gálico	chá preto	50 mg	4,7 μ M	1,4-1,5	39,6%	[14]
Ácido gálico	vinho tinto	4 mg	157 μ M	<1,5	-	[14]
Cianidina 3-glicosídica	aronia	721 mg	0,096 μ mol/L	2,8	0,15%	[91]
Antocianinas	arando em pó	1,2 g	0,029 μ mol/L	4	-	[91]
Malvidina 3-glicosídica	sumo de uva tinto	117 mg	2,8 nM	2	0,02%	[94]
Antocianinas	extrato de baga de sabugueiro	720 mg	0,097 μ mol/L	1,2	0,6%	[95]

C_{max} Concentração máxima no plasma; T_{max} tempo após administração de droga quando é atingida a concentração máxima de plasma, a) % de dose administrada

Vários relatórios [24, 47, 48, 78, 81, 82, 84] sugerem que o efeito de resveratrol é específico por tecido. Dai e seus colaboradores [96] mostraram que o efeito estimulante do resveratrol na proliferação de células humanas mesenquimatosas depende da dose. A concentração do resveratrol de 10^{-5} M foi estimulante, ao passo que uma concentração de 10^{-4} M obteve um efeito inibidor da proliferação. Esta situação demonstra que são necessários estudos clínicos para afinar a dosagem específica para cada atividade terapêutica.

Toxicidade

O uso de constituintes fenólicos tais como suplementos vegetais tem aumentado as preocupações sobre a toxicidade. Os fenóis podem induzir toxicidade devido à sua atividade prooxidante, propriedades indutoras de apoptose com enzimas metabolizantes de drogas [97].

Têm sido efetuados estudos sobre a toxicidade [98] a fim de determinar se grandes quantidades de transresveratrol podem ser toleradas no ratão. No estudo, os investigadores administraram diariamente uma dose de 20mg/kg a ratos machos durante 28 dias. Este estudo foi desenvolvido usando uma dose de trans-resveratrol de aproximadamente 1.000 vezes o consumo médio diário desta componente fenólica. Vários fatores foram atentamente monitorizados e comparados com ratos de controlo, tais como, eficiência alimentar, variáveis hematológicas (glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e quantidade de plaquetas) e variáveis bioquímicas clínicas [glucose, colesterol, triglicédeos, proteínas lipídicas de alta densidade (HDL)/proteínas lipídicas de baixa densidade (LDL) e enzimas do fígado] e exames patológicos (autópsia geral e histopatologia). O tratamento por trans-resveratrol não afetou os resultados dos testes

hematológicos, ou das avaliações bioquímicas clínicas, exceto a aminotransferase aspartate, que foi 30% superior no grupo em tratamento do que no grupo de controlo. O exame histopatológico dos órgãos obtidos na autópsia não revelou quaisquer alterações. Estes resultados comprovam a tese de que o consumo repetido de trans-resveratrol nesta dosagem (20mg/kg do peso corporal por dia) não provoca qualquer efeito toxicológico determinável e que o trans-resveratrol parece ter uma grande margem de segurança [98].

Dados anteriores de potenciais efeitos tóxicos dos fenóis deviam-se principalmente a estudos *in vitro* e eles envolviam considerações de toxicidade incluindo os seus efeitos em toxicidade mitocondrial, citotóxicos e genotóxicos [81, 97, 99]; contudo, outros estudos sugerem que os flavonoides não se transformam *in vivo*. Tal foi o caso de um grande estudo [100] envolvendo quase 10.000 sujeitos, que mostrou uma relação inversa entre o consumo de flavonoides, principalmente quercetina, e incidência de cancro no pulmão. Parece que os biofenóis mostram toxicidade relativamente a células cancerígenas que proliferam rapidamente mas não são tóxicos nas células normais. Na verdade, nenhuns estudos de intervenção dietética referem efeitos negativos dos biofenóis, embora uma grande proporção não tenha mostrado qualquer efeito. Não foi relatada nenhuma toxicidade observável pela administração de uma mega dose de 2g kg^{-1} do peso corporal extrato de proantocianidina de semente de uva num estudo toxicológico [97, 100].

Conclusões

Ao longo dos últimos anos aumentou muito a experiência de acumulada investigação, práticas de conhecimento e aplicações metodológicas no que diz respeito à bioatividade das componentes das bagas, em particular as componentes fenólicas. Parece que a tendência da pesquisa dará especial atenção à biodisponibilidade das componentes antioxidantes das bagas em particular, e a este tipo de componentes de outros frutos em geral e também a uma melhor confirmação dos seus efeitos na saúde do consumidor. A capacidade biosintética de plantas completas em relação aos seus metabolitos secundários deverá ser avaliada de forma mais cuidadosa, especialmente no que diz respeito ao seu extremo potencial nutritivo. A utilização da atividade antimicrobial das componentes fenólicas das bagas como agentes antimicrobiais naturais oferece muitas oportunidades de uso na indústria alimentar e na medicina; o desenvolvimento de abordagens alternativas às componentes das bagas para a prevenção e o controlo de infeções causadas por bactérias resistentes a antibióticos irá também ser uma questão muito importante para estabelecer prioridades de pesquisa no futuro. Acreditamos que deveria ser dada maior ênfase e atenção a culturas destas plantas e a abordagens genéticas à interface com a síntese das componentes nutritivas e promotores de saúde [101].

Agradecimentos: agradecemos o suporte financeiro da CONACyT-México para desenvolver esta pesquisa. O MLCC foi financiado por uma bolsa da CONACyT-México para estudos académicos.



Identification of bioactive response in traditional cherries from Portugal

Ana Teresa Serra^a, Rui O. Duarte^b, Maria R. Bronze^{a,c,d}, Catarina M.M. Duarte^{a,c,*}

^a Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa, Avenida da República, Estação Agronómica Nacional, 2780-157 Oeiras, Portugal

^b REQUIMTE/COFA, Departamento de Química, FCT-UNL, 2829-516 Caparica, Portugal

^c Instituto de Biologia Experimental e Tecnológica, Avenida da República, Quinta-de-Marçães, Estação Agronómica Nacional, Apartado 12, 2781-901 Oeiras, Portugal

^d IMED, Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Av. das Forças Armadas, 1649-019 Lisboa, Portugal

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 October 2009

Received in revised form 3 June 2010

Accepted 26 July 2010

Keywords:

Cherries
Polyphenols
Anthocyanins
Bioactivity
Antioxidant activity
Antiproliferative activity

ABSTRACT

In recent years many studies on cherries have revealed that they are rich sources of bioactive compounds with potential human health benefits. In this work, we evaluated the antioxidant activity and antiproliferative effect in human cancer cells of nine sweet cherries, including two traditional cultivars from Portugal (Saco and Morangão). Results obtained in biological assays, together with the phenolic composition of cherries, were submitted to principal component analysis (PCA) which allowed samples to be grouped in terms of their bioactivity. Saco cherry and two exotic cultivars (Ulster and Lapin) proved to have higher contents of phenolic compounds, highest antioxidant activity and were the most effective in inhibiting human cancer cells derived from colon (HT29) and stomach (MKN45). Correlation of the data obtained showed that anthocyanins were the major contributors to the antioxidant capacity and antiproliferative effect of cherries. Additionally, hydroxycinnamic acids (neochlorogenic acid, chlorogenic acid and *p*-coumaroylquinic acid), flavan-3-ols (catechin and epicatechin) and flavonols (rutin and quercetin-3-glucoside) also play important roles in protection against oxidative stress.

© 2010 Published by Elsevier Ltd.

1. Introduction

Cherries are a very attractive fruit to consumers, for their taste and colour attributes, as well as for their wealth of nutrients. Moreover, cherries are a good source of natural antioxidant substances, namely polyphenols, which are reported to have many health benefits. Cherry polyphenols include flavonoids (anthocyanins, flavan-3-ols and flavonols), hydroxycinnamic acids and hydroxybenzoic acids (Gao & Mazza, 1995; Gonçalves et al., 2004a; Macheix, Feuriot, & Billot, 1990). Among these compounds, especial interest has been focused on anthocyanins, which are the polyphenols responsible for the red skin and flesh colour of fruits, due to their strong antioxidant and anti-inflammatory activities (Blando, Gerardi, & Nicoletti, 2004; Wang et al., 1999). Several studies showed that cherry anthocyanins, and especially cyanidins, have potential to inhibit tumour growth, slow cardiovascular diseases and retard the aging process (Kong, Chia, Goh, Chia, & Brouillard, 2003; Lila, 2004; Seeram, Momin, Nair, & Bourquin, 2001; Zhang, Vareed, & Nair, 2005). Additionally, other flavonoids identified in cherry varieties, such as quercetin, kaempferol, rutin, catechin and epicatechin and phenolic acids (neochlorogenic acid, chlorogenic acid

and *p*-coumaroylquinic acid), are widely reported to act as powerful antioxidants and anticancer agents (Casagrande & Darbon, 2001; Galluzzo et al., 2009; Gonçalves et al., 2004b; Mattila, Hellstroom, & Torronen, 2006). The presence of these compounds in cherry varies considerably and seems to be regulated by environmental and post-harvest factors, including climatic conditions, fruit maturity and storage (Gonçalves et al., 2004a, 2004b; Kállay et al., 2008; Serrano, Guillén, Martínez-Romer, Castillo, & Valero, 2005). In addition and, despite having the same phenolic pattern, large variations in the content were detected between different varieties (Gonçalves et al., 2004a; Simunic, Kovac, Gaso-Sokac, & Pfannhauser, 2005; Usenik, Fabčić, & Stampar, 2008) which means that the biological activity, and consequently the health-promoting effect, of cherries could vary significantly.

Portugal produces more than 15 thousand tons of cherries per year and it is in the northeast of the country, namely in the region of "Beira Interior", where this fruit is more cultivated. In particular, "Cova da Beira" cherry has protected geographical indication (PGI) registration according to the EU regulations. This cherry is produced in the counties of Fundão, Covilhã and Belmonte, and covers both regional and non-regional varieties. The fruits chosen for this study included two regional varieties, namely Saco and Morangão, which are old traditional Portuguese cultivars, and seven exotic cherries (Summit, Maring, Van, Early Van Compact, Lapin, Ulster and Garnet). The phenolic composition of some of these varieties has already been reported by Gonçalves et al. (2004a, 2004b);

* Corresponding author at: Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa, Avenida da República, Estação Agronómica Nacional, 2780-157 Oeiras, Portugal. Tel.: +351 21 4469727; fax: +351 21 4421161.

E-mail address: eduarte@itqb.unl.pt (C.M.M. Duarte).

however, there is little information about their antioxidant activity and no data about antiproliferative effect.

The aim of this work was to evaluate and compare the bioactive effects of the nine cherry cultivars, in an effort to distinguish promising functional fruits. The evaluation of the antioxidant activity was performed using multiple assays, including oxygen radical absorbance capacity (ORAC), hydroxyl radical scavenging capacity (HORAC), hydroxyl radical scavenging activity through the EPR technique and inhibition of human LDL oxidation. Cellular antioxidant activity and antiproliferative effect were also evaluated in all varieties using different human cell models. Polyphenolic content of cherries was also determined in order to try to understand which compounds are responsible for biological activities. Principal components analysis (PCA) was used to compare the results obtained for the 24 parameters evaluated in the nine samples.

2. Materials and methods

2.1. Reagents

Methanol, 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH), 2,2'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (trolox), caffeic acid, bovine serum albumin (BSA), Bradford reagent, 5,5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide (DMPO), hydrogen peroxide (H_2O_2), methylthiazolyl-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT), phosphate buffer solution (PBS) and t-butyl hydroperoxide (t-BHP) were purchased from Sigma-Aldrich (St. Quentin Fallavier, France). Disodium fluorescein (FL) was obtained from TCI Europe (Antwerp, Belgium) and $FeSO_4$ was from Merck (Darmstadt, Germany). Human low-density lipoprotein (LDL) was purchased from Calbiochem (Darmstadt, Germany). All cell culture media and supplements, namely foetal bovine serum (FBS), glutamine and RPMI 1640, were obtained from Invitrogen (Gibco; Invitrogen, Corporation, Paisley, UK).

Employed standards for HPLC analysis were catechin, epicatechin, chlorogenic acid, and p-coumaric acid, all from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), quercetin-3-O-glucopyranoside, rutin, cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3-rutinoside, all from Extrasynthèse (Genay, France).

2.2. Cherries

Sweet cherries from the cultivars Morangão, Saco, Lapin, Garnet, Ulster, Maring, Summit, Van and Early Van Compact, grown in Cova da Beira, Portugal, were randomly harvested by hand between May and June 2008, at the commercial maturity stage. Within 1 h of harvest, all samples were packaged and frozen at -20°C for 4–10 weeks before analyses were carried out.

2.3. Extraction

Cherry extracts were prepared, following the method described by Gonçalves et al. (2004a) with some modifications. Briefly, cherry seeds were removed by hand with care and the edible part of the fruit was lyophilised at -40°C (Modulyo Edwards). Dried cherries (5 g) were milled and further extracted with 100 ml of MeOH 60% at 2000 rpm for 10 min. The homogenates were filtered under vacuum and the solvent was evaporated in a rotary evaporator at 40°C . The remaining extracts were diluted in distilled water to make a final concentration of 0.2 g of dry cherry/ml. Finally, cherry extracts were filtered through 0.22 μm filter and stored at -20°C prior to analysis.

2.4. Analysis of total phenolic compounds

The total concentration of phenolic compounds present in cherry extracts was determined according to the modified Folin Ciocalteu colorimetric method (Singleton & Rossi, 1965), as previously described by Serra et al. (2008). Results were expressed as gallic acid equivalents (GAE) in mg per 100 g dry weight (dw) of edible fruit.

2.5. Analysis of total anthocyanins

Total anthocyanins content was estimated by the pH differential absorbance method, as described by Wrolstad (2000). Briefly, absorbance of cherry extracts was measured at 510 and 700 nm in buffers at pH 1.0 (potassium chloride, 0.025 M) and 4.5 (sodium acetate, 0.4 M). Anthocyanin content was calculated using a molar extinction coefficient of 29.6 (cyanidin-3-glucoside) and absorbance of $A = [(A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 4.5}]$. Results were expressed as mg cyanidin-3-glucoside equivalents per 100 g dry weight of edible fruit.

2.6. HPLC analysis of phenols and anthocyanins

HPLC analysis of phenolic compounds was carried out using a Surveyor apparatus from Thermo Finnigan with a diode array detector (Thermo Finnigan-Surveyor, San Jose, CA, USA) and an electrochemical detector (Dionex, ED40) (Bravo, Silva, Coelho, Vilas Boas, & Bronze, 2006). The data acquisition systems were the Chromquest version 4.0 (Thermo Finnigan-Surveyor, San Jose, CA, USA) and the software 4880 (Unicam) for the diode array and electrochemical detector, respectively. Identification of compounds was done by comparing retention time, spectra and spiking samples with known amounts of pure standards, whenever available. The quantities of the different phenolic compounds were assessed from peak areas and were calculated as equivalents of six representative standard compounds (from standard, linear regression curves of standards prepared in methanol and diluted in methanol:water (50:50) solution). Neochlorogenic acid, p-coumaroylquinic acid and catechin were quantified using HPLC-DAD detection at 280 nm. Herein, neochlorogenic acid was calculated as equivalents of chlorogenic acid, whereas p-coumaroylquinic acid was determined as p-coumaric acid equivalents. Moreover, the flavonols, quercetin-3-glucoside and rutin, were quantified at 360 nm, and calibration curves were obtained using standard compounds. Finally, for the quantification of epicatechin and chlorogenic acid, electrochemical detection (ED) was used, due to co-elution.

For quantification of anthocyanins, the mobile phase used consisted of a gradient mixture of eluent A water:formic acid (90:10 v/v) and eluent B acetonitrile:water:formic acid (40:50:10 v/v/v). The following gradient of eluents was used: 0–15 min from 0% to 20% of eluent B; 10 min with 20% eluent B; 25–70 min, from 20% to 70% eluent B; 70–75 min, with 70% of eluent B; 75–85 min from 70% to 100% eluent B; 85–90 min, with 100% eluent B; 90–95 min from 100% to 0% of eluent B; and 95–100 min 100% of eluent A. The solvent flow rate was 0.7 ml/min. Acquisition range was set between 190 and 700 nm and chromatogram was monitored at 527 nm. Cyanidin glycosides were quantified using standard compounds whereas pelargonidin-3-rutinoside, peonidin-3-glucoside and peonidin-3-rutinoside were calculated as cyanidin-3-glucoside equivalents.

Coefficients of variation on the HPLC quantifications were <5% and final concentrations were expressed as mg/100 g dry weight.

2.7. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC)

ORAC assay was used to evaluate the antioxidant capacity of the samples towards peroxyl radicals. The assay was carried out by following the method of Huang, Ou, Woodill, Flanagan, and Prior, (2002) modified for the FL800 microplate fluorescent reader (Bio-Tek Instruments, Winooski, VT, USA), as described by Feliciano et al. (2009). This assay measured the ability of the antioxidant species in the sample to inhibit the oxidation of disodium fluorescein (FL) catalysed by peroxyl radicals generated from AAPH. All data were expressed as micromoles of trolox equivalent antioxidant capacity per gramme of dry weight ($\mu\text{mol TEAC/g dw}$).

2.8. Hydroxyl radical scavenging capacity (HORAC)

The HORAC assay was based on a previous reported method (Ou et al., 2002), modified for the FL800 microplate fluorescence reader, as described by Serra et al. (2010). Caffeic acid was used as the standard as it provides a wider linear range than does gallic acid (Dubost, Ou, & Beelman, 2007). Data were expressed as micromoles of caffeic acid equivalents per gramme of dry cherries ($\mu\text{mol CAE/g dw}$).

2.9. Hydroxyl radical (HO^\bullet)-scavenging capacity

The ability of the extracts to scavenge hydroxyl radicals generated by hydrogen peroxide (Fenton reaction) was evaluated by electron paramagnetic resonance (EPR), using DMPO as the spin trapping agent, as described previously by Serra et al. (2009). Briefly, hydroxyl radicals were generated by adding 100 μl of 10 mM H_2O_2 to a solution containing 100 μl of DMPO (48 mM) and 100 μl of FeSO_4 (2 mM in phosphate buffer solution, pH 7.4). Immediately, 100 μl of cherry extracts (200 mg dw/ml) were added to the system and the spectrum of DMPO/ HO^\bullet was recorded 3 min later. Control experiments were carried out by adding 100 μl of distilled water. The scavenging capacities of cherry extracts were determined by measuring the intensities of their spectra and final results were expressed as percentages of inhibition relative to the control. All EPR measurements were conducted using a Bruker EMX6/1 spectrometer (Bruker Instruments, Billerica, MA) and a flat cell assembly. Experiments were performed in duplicate, at room temperature and under atmospheric pressure.

2.10. Inhibition of AAPH-induced low-density lipoprotein (LDL) oxidation

The ability of cherry extracts to inhibit human LDL oxidation was evaluated by conjugated diene formation, as previously reported by Serra et al. (2010). In this assay, human LDL (0.1 mg/ml) was oxidised by peroxyl radicals generated by AAPH (500 μM) and conjugated dienes formation was monitored continuously at 234 nm using a ThermoSpectronic Genesys10uv spectrometer. The protective effect of cherry extracts (0.25 $\mu\text{g dw/ml}$ -final concentration in the assay) was achieved by lag phase retardation of human LDL oxidation. Final results were expressed in terms of percentage of lag time retardation relative to the control (without extract).

2.11. Cellular antioxidant activity

Human colon carcinoma Caco2 cells were purchased from DSMZ (Germany), and were routinely grown in RPMI 1640 supplemented with 10% of FBS and 2 mM glutamine. Stock cells were maintained as monolayers in 175 cm^2 culture flasks and incubated at 37 °C in a 5% CO_2 humidified atmosphere.

To evaluate the cellular antioxidant capacity of cherry extracts, Caco2 cells were seeded at a density of 2×10^4 cells/well in 96 well plates and the medium was changed every 48 h. The experiments were performed using completely differentiated cells (after reaching confluence ≈ 72 h). Intracellular antioxidant activity of the apple extracts was evaluated following the formation of reactive oxygen species (ROS) in Caco2 cells after treatment with two chemical stressors: t-BHP and H_2O_2 . The formation of intracellular ROS was monitored using the fluorescent probe, DCFH-DA, as described by Serra et al. (2009). Briefly, for the pre-incubation assay, differentiated Caco2 cells were washed with PBS and incubated for 4 h with cherry extracts (10 mg dw/ml). Then cells were washed again with PBS and incubated with 100 μM DCFH-DA for 30 min. After removal of the DCFH-DA and further washing, 2 mM t-BHP or 10 mM H_2O_2 were added to the cells for 60 min. For the co-incubation assay, cherry extracts were added to Caco2 cells at the same time as chemical stressors. For both assays, fluorescence (F) was measured for each sample at 0 and 60 min in a FL800 fluorescence microplate reader. Cellular antioxidant activity of cherry extracts was expressed as the percentage of inhibition of intracellular ROS caused by exposure to the oxidative stressors and was calculated as $(1 - (F_{60 \text{ min}} - F_0 \text{ min})/F_0 \text{ min}) \times 100$ against a control (cells without cherry extracts).

2.12. Antiproliferative activity

Antiproliferative cell assays were performed using human colon cancer cells HT29 (ATCC, USA) and human gastric cancer cells MKN45 (kindly provided by Dr. Celso Reis – IPATIMUP, Portugal). All cells lines were grown in RPMI 1640 supplemented with 10% FBS and 2 mM glutamine. Stock cells were maintained as monolayers in 175 cm^2 culture flasks and incubated at 37 °C in a 5% CO_2 humidified atmosphere.

Antiproliferative assays were performed as previously reported by Serra et al. (2010). Briefly, cells were cultured in 96-well microplates at a density of 1×10^4 cells/well. After 24 h of incubation at 37 °C in 5% CO_2 , the medium of each well was replaced by medium containing the cherry extracts (0–20 mg dw of cherry/ml). After 96 h of incubation, cell viability was determined using the colorimetric MTT assay. Results were expressed in terms of % of cellular viability relative to control (cells without cherry extracts) and the amount of sample necessary to decrease 50% of the cellular viability, ED_{50} (effective dose), was also calculated. The experiments were performed in triplicates.

2.13. Data treatment

The NTSYS (v 1.70, NTSYS-pc Software) was used for principal component analysis (PCA).

3. Results and discussion

Two traditional cherry varieties and seven exotic cultivars were tested using both cell-free and cell-based assays in order to study their biological activities.

In a first approach, the nine cherry cultivars were characterised in terms of bioactive compounds (polyphenols and anthocyanins) using HPLC. Herein, electrochemical detection was used, not only to quantify compounds that co-elute, but also to identify potential antioxidant ingredients as it detects electrochemically active substances (Feliciano et al., 2009).

Antioxidant activity was evaluated using four different and complementary *in vitro* chemical assays. ORAC and EPR assays measure the potential to scavenge harmful oxygen reactive species, namely peroxyl and hydroxyl radicals, respectively. HORAC

evaluates the efficacy of the sample to prevent hydroxyl radical generation and LDL assay the ability to protect human low-density lipoprotein against oxidation. Moreover, antioxidant activity of cherry varieties was measured at a cellular level, which accomplishes some of the complexity of the biological systems, taking into account the transport of the antioxidant compounds through the cell membrane, their likely metabolism and cellular location. In this study, the protective effect of cherry extracts against cellular reactive oxygen species was studied in differentiated Caco2 cells submitted to oxidative stress generated by two chemical stressors (t-BHP and H₂O₂).

Finally, the cherries' potential to inhibit the proliferation of human cancer cells derived from colon (HT29) and stomach (MKN45) was also evaluated.

Results obtained in all assays showed that, the nine cherry varieties had different phenolic contents (Table 1) and exhibited distinct antioxidant and antiproliferative activities (Table 2).

Due to the large amount of data obtained, principal component analysis (PCA) was used in order to distinguish cherry varieties according to their biological activity. This analysis has been successfully used in the treatment of data obtained from studies of different apple varieties (Serra et al., 2010) and wines (Feliciano et al., 2009; Kallithraka et al., 2001).

In the present work, 24 variables were measured in nine cherries and data were analysed by PCA (Table 3). The cumulative percentage of the total variance explained by the first two components was 78.4%. A bidimensional plot was designed (Fig. 1) and the distribution of cherry cultivars along PC1 and PC2 shows that samples could be divided into four main groups: group A, which is located in quadrants I and III and includes Summit, Garnet and traditional Morangão cherry varieties; group B, positioned nearly to the centre of the bidimensional plot, that comprises Maring, Early Van Compact and Van cherries; group C, located in quadrant II, which includes Lapin and the other traditional cherry variety (Saco); group D that corresponds to only one variety (Ulster), located in quadrant IV.

In order to understand which variables accounted most to the distribution obtained, they were added to the bidimensional plot (Fig. 1). Groups C and D include the cherries with the highest concentrations of phenolic compounds and the best results of antioxidant activity. In particular, Saco and Lapin varieties (group C) exhibited the highest ORAC and HORAC values and were the most effective in inhibiting human LDL oxidation (Table 2). Moreover, these two varieties, distinguished from the others by their higher contents of total polyphenols, total anthocyanins and, in particular, catechin, epicatechin, neochlorogenic acid, chlorogenic acid, quer-

cetin-3-glucoside, cyanidin-3-glucoside, pelargonidin-3-rutinoside + peonidin-3-glucoside and peonidin-3-rutinoside. These results suggest that these compounds could be the major contributors for the HORAC and ORAC values obtained and also for the capacity to prevent LDL oxidation. In fact, high correlations ($r > 0.83$) were obtained between the total concentration of polyphenols and anthocyanins and the antioxidant activities measured by ORAC, HORAC and LDL assays (Table 4). Among all compounds, the best coefficients of correlation were achieved between chlorogenic acid and quercetin-3-glucoside with ORAC ($r = 0.888$; 0.878, respectively), HORAC ($r = 0.883$; 0.846, respectively) and LDL ($r = 0.864$; 0.821, respectively) assays. In addition, peonidin-3-rutinoside also exhibited an important effect on the prevention capacity of cherries to inhibit human LDL oxidation ($r = 0.870$). It is important to underline that all compounds were detected by HPLC with the electrochemical detection mode (Fig. 2) which is an important tool to detect substances with antioxidant activity. Previous studies with apples and wines reported good correlations between total area of electrochemical chromatogram (TED) and ORAC values of samples (Feliciano, Serra, Duarte, Carvalho, & Bronze, 2007; Feliciano et al., 2009). In this study, cherries of group C showed the highest TED values and high coefficients of correlation were obtained between ORAC ($r = 0.856$), HORAC ($r = 0.940$) and LDL ($r = 0.787$) antioxidant assays (Table 4). Moreover, phenolic compounds identified in Fig. 2 were already reported by other authors to be active antioxidative substances in cherries. For example, Piccolella et al. (2008) studied the antioxidant properties of methanolic extracts from sour cherries and they found that flavonoids (including catechin, epicatechin, quercetins and anthocyanins) and quinic acid derivatives (chlorogenic acid, neochlorogenic acid) were the most active substances in scavenging free radicals ($O_2^{\cdot-}$, NO and ABTS $^{\cdot+}$). Cyanidin and its derivatives were also recognised to be significant contributors to the antioxidant activity measured by ABTS assay, in tart cherry products (Kyriakosyan, Seymour, Llanes, Kaufman, & Bolling, 2009). For ORAC assay, Blando et al. (2004) found that the antioxidant values of cherries were related to their total anthocyanin content whereas, for HORAC assay, to date, no study has been published for cherry samples. In our previous study with apple cultivars, good correlations ($r > 0.725$) were obtained between antioxidant values of ORAC and HORAC with catechin, epicatechin and chlorogenic acid, suggesting that these compounds are the major contributors to antioxidant capacity in several fruit matrices. Regarding LDL assay, Gonçalves et al. (2004b) reported that the antioxidant activity of Portuguese cherries on human LDL tended to correlate with catechin concentrations. In contrast to our results, these authors found a negative

Table 1
Phenolic characterisation of cherry cultivars^a.

Cherry cultivars	TPC	TAC	TED	Flavan-3-ols		Hydroxycinnamates			Flavonols		Anthocyanins			
				Cat	Ep	NcAc	pCqAc	CAC	Rut	Q3g	C3g	C3r	P3r + Pn3g	Pn3r
EVCompact	956 ± 23	224 ± 10	98.3	5.8	1.8	55.8	3.7	3.0	31.7	3.3	26.4	206	3.6	2.0
Garnet	653 ± 21	69 ± 1	82.4	2.7	0.3	26.0	2.3	2.9	18.7	1.3	3.7	68.8	<1.0	<1.0
Lapin	1309 ± 3	372 ± 5	156.3	8.6	10.6	85.5	6.1	8.9	23.4	3.9	70.3	162	4.5	5.4
Maring	823 ± 18	151 ± 2	98.8	8.3	1.5	65.7	3.7	4.6	32.9	2.1	34.7	142	<1.0	<1.0
Morangão	555 ± 14	5.6 ± 0.1	81.2	3.8	2.4	74.3	5.6	4.6	14.9	0.8	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
Saco	1309 ± 12	296 ± 5	227.2	7.5	9.4	123	15.2	8.7	26.6	5.3	55.6	282	5.3	3.5
Summit	440 ± 42	28.8 ± 0.4	29.2	3.8	0.1	20.8	17.6	1.9	7.8	0.6	2.9	36.0	<1.0	<1.0
Ulster	1187 ± 21	292 ± 5	116.2	6.8	3.0	54.4	32.8	6.7	28.0	2.3	28.2	303	1.8	1.6
Van	999 ± 22	251 ± 4	114.0	7.4	2.6	61.9	4.6	5.3	34.2	3.5	70.1	253	1.8	2.5

TPC, total polyphenolic content (expressed as mg of gallic acid equivalents/100 g dw); TAC, total anthocyanin content (expressed as mg of cyanidin-3-glucoside equivalents/100 g dw); TED, total area of chromatogram obtained with electrochemical detection; Cat, catechin; Ep, epicatechin; NcAc, neochlorogenic acid; pCqAc, p-coumaroylquinic acid; CAC, chlorogenic acid; Rut, rutin; Q3g, quercetin-3-glucoside; C3g, cyanidin-3-glucoside; C3r, cyanidin-3-rutinoside; P3r, pelargonidin-3-rutinoside; Pn3g, peonidin-3-glucoside; and Pn3r, peonidin-3-rutinoside.

^a Results are expressed in mg/100 g of dry weight except for TED which corresponds to total area of chromatogram obtained by electrochemical detection. Coefficients of variation of the HPLC quantifications were <5%.

Table 2
Antioxidant and antiproliferative activities of cherry varieties^a.

Cherry cultivars	In vitro antioxidant activity				Cellular antioxidant activity ^f		Antiproliferative activity ^g	
	ORAC ^b	HORAC ^c	EPR ^d	LDL ^e	t-BHP	H ₂ O ₂	HT29	MKN45
EVCompact	120 ± 8	64 ± 2	30.4 ± 2.2	5.6	21.0 ± 3.0 co 13.6 ± 2.4 pre	19.2 ± 1.7 co 13.4 ± 1.7 pre	6.2 ± 1.1	9.8 ± 2.8
Garnet	66 ± 5	49 ± 6	41.5 ± 3.6	3.7	13.2 ± 1.3 co 14.6 ± 2.3 pre	12.0 ± 2.0 co 11.6 ± 2.4 pre	6.9 ± 0.2	13.8 ± 2.5
Lapin	177 ± 7	93 ± 6	50.4 ± 0.2	8.2	29.8 ± 3.6 co 19.0 ± 2.2 pre	31.3 ± 4.6 co 15.8 ± 3.5 pre	5.9 ± 0.5	10.5 ± 0.7
Maring	104 ± 6	65 ± 6	32.1 ± 6.2	5.2	10.7 ± 2.0 co 13.5 ± 1.8 pre	20.1 ± 1.6 co 19.7 ± 3.2 pre	8.4 ± 0.6	11.0 ± 0.1
Morangão	66 ± 8	44 ± 5	32.1 ± 3.1	4.2	15.1 ± 1.5 co 16.0 ± 1.1 pre	15.0 ± 1.9 co 14.7 ± 2.9 pre	13.8 ± 1.8	16.3 ± 1.1
Saco	172 ± 7	132 ± 6	41.7 ± 2.0	6.5	23.9 ± 3.0 co 15.4 ± 1.8 pre	33.7 ± 6.1 co 16.6 ± 3.3 pre	5.4 ± 0.4	6.5 ± 0.6
Summit	50 ± 7	24 ± 2	56.5 ± 1.8	2.5	3.3 ± 0.7 co 7.0 ± 1.5 pre	6.6 ± 1.0 co 8.4 ± 2.7 pre	9.4 ± 1.1	15.9 ± 1.9
Ulster	156 ± 5	103 ± 8	68.4 ± 3.6	5.8	19.3 ± 1.0 co 15.1 ± 2.2 pre	32.6 ± 5.0 co 20.3 ± 1.5 pre	4.3 ± 0.1	5.6 ± 1.2
Van	122 ± 7	67 ± 1	42.8 ± 7.6	5.6	21.6 ± 4.1 co 14.6 ± 4.0 pre	26.3 ± 4.0 co 18.9 ± 1.8 pre	5.0 ± 0.3	6.2 ± 1.6

^a Values are expressed as means of at least three replications a standard deviation.

^b Oxygen radical absorbing capacity assay. Results are expressed as μmol of trolox equivalents/g dw.

^c Hydroxyl radical scavenging capacity assay. Results are expressed as μmol of caffeic acid equivalents/g dw.

^d Scavenging capacity of cherry extracts against hydroxyl radicals, measured by electron paramagnetic spin resonance technique. Cherry extracts (50 mg dw/ml-final concentration in the assay) were added to a solution containing 2.5 mM H₂O₂, 12 mM DMPD and 0.5 mM Fe₂SO₄ and results are expressed in terms of % signal reduction relative to the control (without cherry extract).

^e Low-density lipoprotein oxidation assay. Effect of cherry extracts (0.25 μg dw/ml-final concentration in the assay) on AAPH (500 μM)-induced human LDL (0.1 mg/ml) oxidation. Results are expressed as lag time retardation relative to the control. Coefficients of variation <10%.

^f Effect of cherry extracts (10 mg dw/ml-final concentration in the assay) on t-BHP (2 mM) or H₂O₂ (10 mM) induced reactive oxygen species in Caco2 cells, measured by dichlorofluorescein oxidation. Values of pre-incubation (pre) and co-incubation (co) assays are expressed as % of inhibition capacity relative to the control.

^g Effective dose values (ED₅₀) of cherries (expressed as mg/ml) on HT29 and MKN45 antiproliferative assays. Human colon and gastric cancer cells were incubated for 96 h with cherry extracts, and cell viability was assessed by MTT assay.

Table 3
Numbers and abbreviations of 24 variables considered for PCA.

Number	Abbreviation	Variable designation
1	TPC	Total polyphenolic concentration
2	TAC	Total anthocyanin concentration
3	Cat	Catechin content
4	Ep	Epicatechin content
5	NeAc	Neochlorogenic acid content
6	pCqAc	p-Coumaroylquinic acid content
7	CAC	Chlorogenic acid content
8	Rut	Rutin content
9	Q3g	Quercetin-3-glucoside content
10	C3g	Cyanidin-3-glucoside content
11	C3r	Cyanidin-3-rutinoside content
12	Pl3r + Pn3g	Pelargonidin-3-rutinoside + peonidin-3-glucoside content
13	Pn3r	Peonidin-3-rutinoside
14	TED	Total electrochemical area
15	ORAC	ROO [•] -scavenging capacity measured by ORAC assay
16	HORAC	Prevention of HO [•] formation capacity measured by HORAC assay
17	EPR	HO [•] -scavenging capacity measured by EPR assay
18	LDL	Inhibition of LDL oxidation
19	H ₂ O ₂ pre	Cellular antioxidant capacity towards H ₂ O ₂ -induced oxidative stress (pre-incubation)
20	H ₂ O ₂ co	Cellular antioxidant capacity towards H ₂ O ₂ -induced oxidative stress (co-incubation)
21	t-BHPpre	Cellular antioxidant capacity towards H ₂ O ₂ -induced oxidative stress (pre-incubation)
22	t-BHPco	Cellular antioxidant capacity towards H ₂ O ₂ -induced oxidative stress (co-incubation)
23	HT29	ED ₅₀ values towards HT29 proliferation
24	MKN45	ED ₅₀ values towards MKN45 proliferation

correlation with cyanidin-3-rutinoside levels and indicated p-coumaroylquinic acid as the major contributor to antioxidant activity of cherries. This difference can be due to the use of different induc-

tors in the oxidation assay; in our work, an azo compound (AAPH) was used, which generates peroxy radicals by thermal decomposition, while Gonçalves et al. (2004a, 2004b) used transition metal ions derived from CuSO₄.

Among all compounds studied in this work, p-coumaroylquinic acid was identified to be the only one responsible for hydroxyl radical-scavenging capacity (EPR assay) in cherry cultivars ($r = 0.851$, Table 4). The highest content of this phenolic acid was detected in Ulster, the cherry variety most effective at reducing EPR spectra (Table 2). Herein, it is important to note that these two variables, together with the powerful antiproliferative effect on both human colon and gastric cancer cells (lowest ED₅₀ values), contributed to distinguish this cherry from the others – group D (Fig. 1). As shown in Table 2, Ulster exhibited the highest antiproliferative effect in both cancer cells, followed by Saco, Van and Lapin, which were the varieties with higher contents of anthocyanins. Accordingly, the results obtained from the correlation analysis show that total anthocyanins and, in particular, cyanidin glycosides, are the major compounds responsible for the inhibition capacity on human colon and gastric cancer cells growth (Table 4). These substances are widely reported to have anticarcinogenic activities in cell culture models and also in animal model tumour systems (Wang & Stoner, 2008).

Furthermore, cherries of groups C and D are distinguished from the others due to their higher antioxidant activities in cellular assays (Fig. 1). For co-incubation methodology (when cells were co-incubated with cherry extracts plus chemical stressors), total phenolic content and, in particular, total anthocyanins concentration of cherries seemed to be the major factor responsible for the cellular antioxidant protection ($r > 0.85$, Table 4). In fact, the cherries with higher total anthocyanin concentration (>200 mg/100 g dw, Table 1), namely Saco, Lapin, Ulster, Early Van Compact and Van, were the ones that exhibited the highest antioxidant effect in the two co-incubation assays (Fig. 3). When comparing the

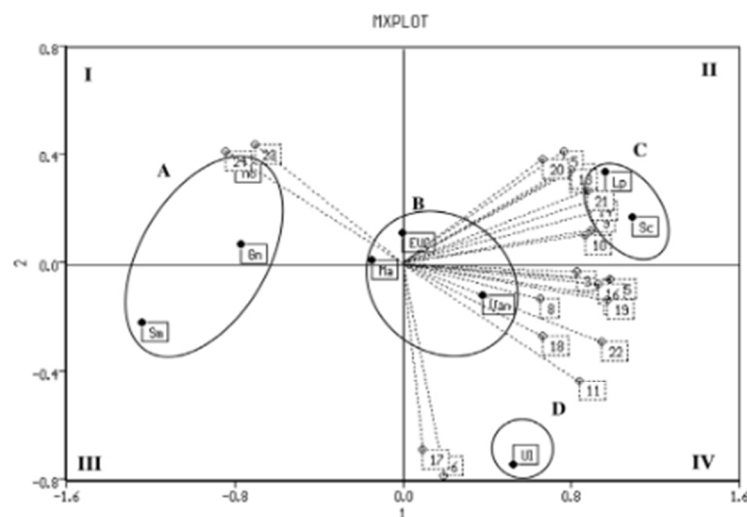


Fig. 1. Distribution of nine Portuguese cherry varieties along principal components 1 (PC1) and 2 (PC2), using 24 variables.

Table 4

Correlation coefficients between phenolic content and both antioxidant and antiproliferative assays.

	ORAC	HORAC	EPR	LDL	H ₂ O ₂ pre	H ₂ O ₂ co	BHPpre	BHPco	HT29	MKN45
TPC	0.994	0.931	0.154	0.923	0.630	0.965	0.652	0.872	-0.752	-0.847
TAC	0.972	0.832	0.192	0.916	0.583	0.915	0.573	0.850	-0.808	-0.841
TED	0.856	0.940	-0.071	0.787	0.498	0.856	0.644	0.783	-0.509	-0.674
Cat	0.823	0.680	-0.027	0.831	0.753	0.802	0.442	0.608	-0.528	-0.711
Ep	0.825	0.783	0.100	0.844	0.298	0.766	0.655	0.801	-0.344	-0.421
NAC	0.721	0.794	-0.211	0.724	0.506	0.744	0.620	0.689	-0.149	-0.472
CAC	0.888	0.883	0.233	0.864	0.604	0.913	0.735	0.797	-0.422	-0.607
pCqAc	0.283	0.370	0.851	-0.014	0.195	0.337	-0.205	-0.063	-0.294	-0.360
Rut	0.604	0.524	-0.339	0.605	0.784	0.624	0.419	0.530	-0.614	-0.799
Q3g	0.878	0.846	-0.162	0.821	0.439	0.820	0.512	0.820	-0.680	-0.770
C3g	0.818	0.661	-0.029	0.842	0.589	0.800	0.522	0.769	-0.640	-0.737
C3r	0.829	0.813	0.191	0.639	0.674	0.850	0.316	0.619	-0.859	-0.990
PI3r + Pn3g	0.806	0.771	-0.092	0.766	0.131	0.680	0.465	0.784	-0.493	-0.507
Pn3r	0.805	0.640	0.092	0.870	0.210	0.699	0.613	0.848	-0.476	-0.433

ORAC, oxygen radical absorbing capacity assay; HORAC, hydroxyl radical absorbing capacity assay; EPR, scavenging capacity towards hydroxyl radicals measured by electron paramagnetic spin resonance technique; LDL, low-density lipoprotein oxidation assay; H₂O₂pre, cellular antioxidant activity against hydrogen peroxide-induced oxidative stress-pre-incubation assay; H₂O₂co, cellular antioxidant activity against hydrogen peroxide-induced oxidative stress-co-incubation assay; t-BHPpre, cellular antioxidant activity against t-butyl hydroperoxide-induced oxidative stress-pre-incubation assay; t-BHPco, cellular antioxidant activity against t-butyl hydroperoxide-induced oxidative stress-co-incubation assay; HT29, antiproliferative effect on human colon cancer cells; MKN45, antiproliferative effect on human gastric cancer cells; TPC, total polyphenolic content; TAC, total anthocyanin content; TED, total electrochemical area; Cat, catechin; Ep, epicatechin; NAC, neochlorogenic acid; CAC, chlorogenic acid; pCqAc, p-coumaroylquinic acid; Rut, rutin; Q3g, quercetin-3-glucoside; C3g, cyanidin-3-glucoside; C3r, cyanidin-3-rutinoside; PI3r + Pn3g, pelargonidin-3-rutinoside + peonidin-3-glucoside; and Pn3r, peonidin-3-rutinoside.

results obtained in co- and pre-incubation tests, these five cultivars showed a significant decrease on antioxidant protection in the latter assay. This difference could be explained by the presence of anthocyanins, which are compounds with lower absorption in Caco2 cell monolayers but powerful scavengers of extracellular free radicals (Yi, Akoh, Fischer, & Krewer, 2006). The other four cultivars showed similar results in both assays, which means that phenolic compounds with higher permeability in Caco2 could be the main responsible agents for the cellular antioxidant response. Accordingly, for pre-incubation assays, the best correlations were obtained between t-BHPpre and chlorogenic acid concentrations ($r = 0.735$) and for H₂O₂pre and catechin ($r = 0.753$) and rutin ($r = 0.784$) contents (Table 4). These compounds were already re-

ported to have good absorption (Deprez, Mila, Huneau, Tome, & Scalbert, 2001; Konishi & Kobayashi, 2004) and also antioxidant protection in Caco2 cells submitted to oxidative stress (Aherne & O'Brien, 1999). Additionally, results obtained with different apple varieties show that catechin was the major contributor to the intracellular antioxidant protection in the same cellular model (Serra et al., 2010).

Samples in group B are located in the centre of the bidimensional plot and include the cherry varieties with moderate polyphenolic contents, antioxidant and antiproliferative activities (EVCompact, Maring and Van) (Fig. 1). Among the three, the Van variety had a higher concentration of phenolic compounds and bio-activity, which are the variables that account more for PC1.

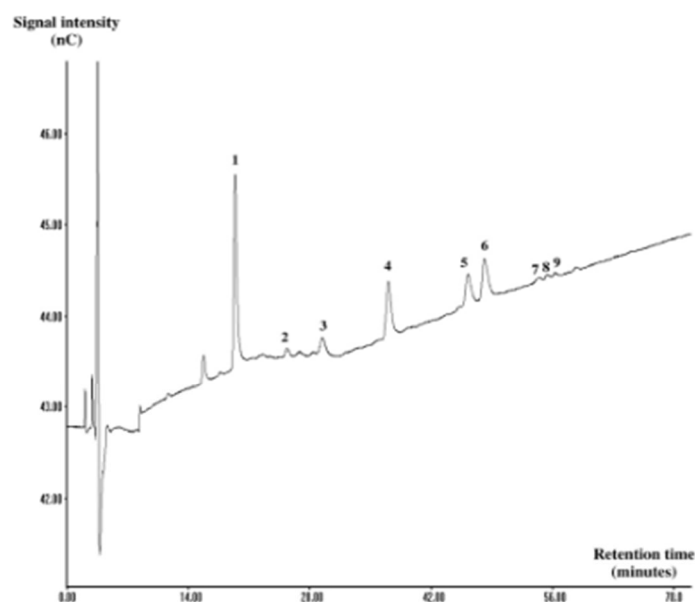


Fig. 2. Chromatographic profile of Saco cherry extract using ED. Legend: 1 – neochlorogenic acid; 2 – catechin; 3 – chlorogenic acid; 4 – epicatechin; 5 – cyanidin-3-glucoside; 6 – cyanidin-3-rutinoside; 7 – peonidin-3-rutinoside; 8 – rutin; 9 – quercetin-3-glucoside.

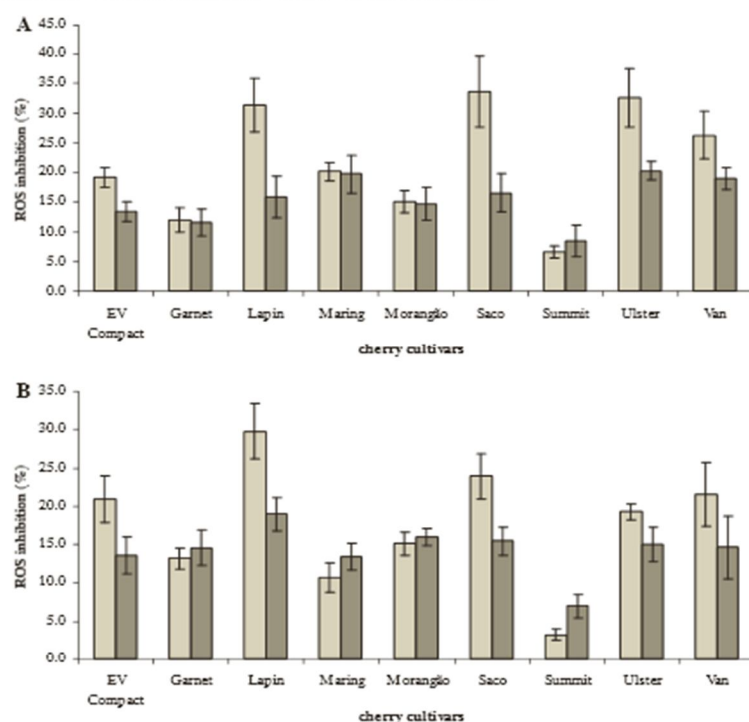


Fig. 3. Effects of cherry extracts (10 mg dw/ml) on (A) H₂O₂- and (B) t-BHP-induced ROS in Caco2 cells, measured by 2',7'-dichlorofluorescein oxidation. Comparison between co-incubation (light bars) and pre-incubation (dark bars) assays.

Finally, group A includes Summit, Garnet and traditional Morangão cherries, which are the varieties with lower phenolic contents, antioxidant activities and antiproliferative effects.

4. Conclusions

The study reported herein describes, for the first time, the biological activities of two traditional Portuguese cherries (Saco and Morangão). The results indicated the Saco variety as a rich source of bioactive ingredients with high antioxidant capacity and antiproliferative effect in human cancer cells. This traditional cherry and exotic cultivars Lapin and Ulster can be considered as promising functional foods for human health applications.

Acknowledgments

The authors are grateful to Eng^o Matos Soares and Luís Martins for providing cherry samples. Ana T. Serra acknowledges the financial support received from FCT (Fundação para a Ciência e Tecnologia), through the grant SFRH/BD/19238/2004.

References

- Aherne, S. A., & O'Brien, N. M. (1999). Protection by the flavonoids myricetin, quercetin, and rutin against hydrogen peroxide-induced DNA damage in Caco-2 and HepG2 cells. *Nutrition and Cancer*, 34, 160–166.
- Blando, F., Gerardi, C., & Nicoletti, I. (2004). Sour cherry (*Prunus cerasus* L.) anthocyanins as ingredients for functional foods. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5, 253–258.
- Bravo, M. N., Silva, S., Coelho, A. V., Vilas Boas, L., & Bronze, M. R. (2006). Analysis of phenolic compounds in Muscatel wines produced in Portugal. *Analytica Chimica Acta*, 563, 84–92.
- Casagrande, F., & Darbon, J. (2001). Effects of structurally related flavonoids on cell cycle progression of human melanoma cells: Regulation of cyclin-dependent kinases CDK2 and CDK1. *Biochemical Pharmacology*, 61, 1205–1215.
- Deprez, S., Mila, I., Huneau, J. F., Torne, D., & Scalbert, A. (2001). Transport of proanthocyanidin dimer, trimer, and polymer across monolayers of human intestinal epithelial Caco-2 cells. *Antioxidant Redox Signaling*, 3, 957–967.
- Dubost, N. J., Ou, B., & Beelman, R. B. (2007). Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 105, 727–735.
- Feliciano, R. P., Bravo, M. N., Pires, M. M., Serra, A. T., Duarte, C., Boas, L. V., et al. (2009). Phenolic content and antioxidant activity of Muscatel dessert wines from the Setúbal region of Portugal. *Food Analytical Methods*, 2, 149–161.
- Feliciano, R., Serra, A. T., Duarte, C. M. M., Carvalho, A., & Bronze, M. R. (2007). Analysis of apple extracts by HPLC: Correlation between electrochemical detection and TEAC. In 5th National meeting of chromatography (Aveiro, Portugal).
- Galluzzo, P., Martini, C., Bulzoni, P., Leone, S., Bolli, A., Pallottini, V., et al. (2009). Quercetin-induced apoptotic cascade in cancer cells: Antioxidant versus estrogen receptor alpha-dependent mechanisms. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53, 699–708.
- Gao, L., & Mazza, G. (1995). Characterization, quantification and distribution of anthocyanins and colourless phenolics in sweet cherry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 343–346.
- Gonçalves, B., Landbo, A. K., Knudsen, D., Silva, A. P., Pereira, J. M., Rosa, E., et al. (2004a). Effect of ripeness and postharvest storage on the phenolic profiles of cherries (*Prunus avium* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 523–530.
- Gonçalves, B., Landbo, A. K., Let, M. D., Silva, A. P., Pereira, J. M., Rosa, E., et al. (2004b). Storage affects the polyphenolic profiles and antioxidant activities of cherries (*Prunus avium* L.) on human low-density lipoproteins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1013–1020.
- Huang, D., Ou, B., Woodill, M. H., Flanagan, J. A., & Prior, R. L. (2002). High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4437–4444.
- Kállay, E., Steger-Máté, M., Mester-Fizsek, M., Sándor, G., Bujdoso, G., & Tóth, M. (2008). Changes of polyphenol, anthocyanin and rutin content in sour cherry varieties during ripening. *Acta Biologica Szegediensis*, 52, 217–219.
- Kallithraka, S., Arvanitoyannis, I. S., Kefalas, P., El-Zajouli, A., Soufleros, E., & Parris, E. (2001). Instrumental sensory analysis of Greek wines: implementation of principal component analysis (PCA) for classification according to geographical origin. *Food Chemistry*, 73, 501–514.
- Kong, J. M., Chia, L. S., Goh, N. K., Chia, T. F., & Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64, 923–933.
- Konishi, Y., & Kobayashi, S. (2004). Transcellular transport of chlorogenic acid, caffeic acid, and their colonic metabolites in intestinal Caco-2 cell monolayers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 2518–2526.
- Kyrakosyan, A., Seymour, E. M., Llanes, D. E. U., Kaufman, P. B., & Bolling, S. F. (2009). Chemical profile and antioxidant capacities of tart cherry products. *Food Chemistry*, 115, 20–25.
- Lila, M. A. (2004). Anthocyanins and human health: An in vitro investigation approach. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5, 306–313.
- Macheix, J., Feuniet, A., & Billot, J. (1990). *Fruit phenolics*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Mattila, P., Hellstroom, J., & Torronen, R. (2006). Phenolic acids in berries, fruits and beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7193–7199.
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J., Deemer, E. K., Prior, R. L., & Huang, D. (2002). Novel fluorometric assay for hydroxyl radical prevention capacity using fluorescein as the probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2772–2777.
- Piccolella, S., Fiorentino, A., Pacifico, S., D'Ambrosia, B., Uzzo, P., & Monaco, P. (2008). Antioxidant properties of sour cherries (*Prunus cerasus* L.): Role of colorless phytochemicals from the methanolic extract of ripe fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 1928–1935.
- Seeram, N. P., Momin, R. A., Nair, M. G., & Bourquin, L. D. (2001). Cyclooxygenase inhibitory and antioxidant cyanidin glycosides in cherries and berries. *Phytomedicine*, 8, 362–369.
- Serra, A. T., Matias, A. A., Frade, R. F. M., Duarte, R. O., Feliciano, R. P., Bronze, M. R., et al. (2010). Characterization of traditional and exotic apple varieties from Portugal. Part 2 – Antioxidant and antiproliferative activities. *Journal of Functional Foods*, 2, 46–53.
- Serra, A. T., Matias, A. A., Nunes, A. V. M., Leitão, M. C., Brito, D., Bronze, R., et al. (2008). In vitro evaluation of olive- and grape-based natural extracts as potential preservatives for food. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 311–319.
- Serrano, M., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Castillo, S., & Valero, D. (2005). Chemical constituents and antioxidant activity of sweet cherry at different ripening stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2741–2745.
- Simunic, V., Kovac, S., Gaso-Sokac, D., & Pfannhauser, M. M. (2005). Determination of anthocyanins in four different Croatian cultivars of sour cherries (*Prunus cerasus*). *European Food Research Technology*, 220, 575–578.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
- Usenik, V., Fabčić, J., & Stampar, F. (2008). Sugar, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chemistry*, 107, 185–192.
- Wang, H., Nair, M. G., Strasburg, C. M., Chang, Y. C., Booren, A. M., Gray, J. L., et al. (1999). Antioxidant and anti-inflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. *Journal of Natural Products*, 62, 294–296.
- Wang, L. S., & Stoner, G. D. (2008). Anthocyanins and their role in cancer prevention. *Cancer Letters*, 269, 281–290.
- Wroblestad, R. E. (2000). Current protocols in food analytical chemistry (unit F1.2).
- Yi, W., Akoh, C. C., Fischer, J., & Krewer, G. (2006). Absorption of anthocyanins from blueberry extracts by Caco-2 human intestinal cell monolayers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 5651–5658.
- Zhang, Y., Vareed, S. K., & Nair, M. (2005). Human tumor cell growth inhibition by nontoxic anthocyanidins, the pigments in fruits and vegetables. *Life Sciences*, 76, 1465–1472.

Texto de chegada 2

FOOD CHEMESTRY

Identificação da resposta bioativa nas cerejas tradicionais de Portugal

Ana Teresa Serra ^a, Rui O. Duarte ^b, Maria R. Bronze ^{a,c,d},
Catarina M.M. Duarte ^{a,c,†}

^a Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa, Avenida da República, Estação Agronómica Nacional, 2780-157 Oeiras, Portugal

^b REQUIMTE/CQFB, Departamento de Química, FCT-UNL, 2829-516 Caparica, Portugal

^c Instituto de Biologia Experimental e Tecnológica, Avenida da República, Quinta-do-Marquês, Estação Agronómica Nacional, Apartado 12, 2781-901 Oeiras, Portugal

^d iMED, Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Av. das Forças Armadas, 1649-019 Lisboa, Portugal

Informação do artigo	Resumo
História do artigo Recebido a 9 de outubro de 2009 Recebido revisto a 3 de junho de 2010 Aceite a 28 de julho de 2010	
Palavras-chave: Cerejas Polifenóis Antocianinas Bioatividade Atividade antioxidante Atividade antiproliferativa	Nos últimos anos houve muitos estudos que revelaram que as cerejas são ricas em componentes bioativas com potenciais benefícios à saúde humana. Neste trabalho, avaliamos o efeito da atividade antioxidante e antiproliferativa nas células humanas do cancro em nove cerejas doces, incluindo as duas cultivadas tradicionalmente em Portugal (Saco e Morangão). Os resultados obtidos nos ensaios biológicos, juntamente com a composição fenólica das cerejas, foram submetidos a análise de componentes principais (ACP) que permitiu que as amostras fossem agrupadas em termos de bioatividade. As cerejas Saco e dois cultivares exóticos (Ulster e Lapin) provaram ter o maior conteúdo de componentes fenólicos, a maior atividade antioxidante e foram os mais eficazes a inibir células humanas de cancro do cólon (HT29) e do estômago (MKN45). A correlação entre os dados obtidos mostra que as antocianinas foram as que mais contribuíram

para a capacidade antioxidante e o efeito antiproliferativo das cerejas. Adicionalmente, os ácidos hidroxicinâmicos (ácido neoclorogénico, ácido clorogénico e ácido *p*-cumaroilquinico), flavan-3-ol (catequinas e epicatequina) e

flavonoides (rutina e quercetin-3-glucosídeo) também desempenham um papel importante na proteção contra o stress oxidativo.

2010 Published by Elsevier Ltd.

1. Introdução

As cerejas são frutos atrativos aos consumidores, pelo seu sabor e cor, assim como os seus nutrientes saudáveis. Além disso, as cerejas são uma boa fonte de substâncias antioxidantes naturais, nomeadamente polifenóis, que são referidos por ter vários benefícios para a saúde. Os polifenóis das cerejas incluem flavonoides (antocianinas, flavan-3-ol e favonóis), ácidos hidroxicinâmicos e ácido hidrobenczoico (Gao & Mazza, 1995; Gonçalves *et al.*, 2004a; Macheix, Feuri-et, & Billot, 1990). Entre estas componentes, foi tido particular interesse nas antocianinas, que são os polifenóis responsáveis pela pele vermelha e cor fresca dos frutos, e assim a sua força antioxidante e atividades anti-inflamatórias (Blando, Gerardi, & Nicoletti, 2004; Wang *et al.*, 1999). Vários estudos mostraram que as antocianinas das cerejas, e especialmente as cianidinas, têm um potencial de inibir o aumento de tumores, abrandar doenças cardiovasculares e retardar o processo de envelhecimento (Kong, Chia, Goh, Chia & Brouillard, 2003; Lila, 2004; Seeram, Momin, Nair & Bourquin, 2001; Zhang, Vareed & Nair, 2005). Além disto, outros flavonoides identificados nas variedades de cerejas, tais como a quercetina, campferol, rutina, catequina e epicatequina e ácidos fenólicos (ácido neoclorogénico, ácido clorogénico e ácido *p*-coumaroilquinico) são frequentemente identificados pelo facto de serem fortes antioxidantes e agentes anticancerígenos (Casagrande & Darbon, 2001; Galluzzo *et al.*, 2009; Gonçalves *et al.*, 2004b; Mattila, Hellst- room, & Torronen,

2006). A presença destas componentes nas cerejas varia consideravelmente e parece ser regulada por fatores ambientais e pós apanha, incluindo condições climáticas, maturidade do fruto e armazenamento (Gonçalves *et al.*, 2004a, 2004b; Kállay *et al.*, 2008; Serrano, Guillén, Martinez-Romer, Castillo, & Valero, 2005). Além disso, e apesar de terem o mesmo padrão fenólico, foram detetadas grandes variações no conteúdo entre as diferentes variedades (Gonçalves *et al.*, 2004a; Simunic, Kovac, Gaso-Sokac, & Pfannhauser, 2005; Usenik, Fabcic, & Stampar, 2008) o que significa que a atividade biológica e consequentemente o efeito de promoção da saúde pelas cerejas pode variar significativamente.

Portugal produz mais do que quinze mil toneladas de cereja por ano e é no nordeste do país, nomeadamente na região da Beira Interior, onde estes frutos são mais cultivados. Em particular, a cereja da Cova da Beira tem Indicação Geográfica Protegida (IGP) de acordo com o regulamento da União Europeia. Esta cereja é produzida nas cidades do Fundão, Covilhã e Belmonte e cobre as variedades regionais e não regionais. Os frutos escolhidos para este estudo incluem duas variedades regionais, nomeadamente Saco e Morangão, que são um cultivar antigo e tradicional português e sete cerejas exóticas (Summit, Maring, Van, Early Van Compact, Lapin, Ulster e Garnet). A composição fenólica de algumas destas variedades já foi reportada por Gonçalves *et al.* (2004a, 2004b); contudo, há pouca informação sobre a sua atividade

antioxidante e não há dados sobre o seu efeito antiproliferativo.

O objetivo deste trabalho é avaliar e comparar os efeitos bioativos de nove cultivares de cerejas, num esforço de distinguir frutos funcionalmente promissores. A avaliação da atividade antioxidante foi levada a cabo através de vários ensaios, incluindo capacidade de absorção de radicais de oxigénio (ORAC), capacidade referente a radicais hidroxilos (HORAC), atividade de recuperar radicais hidroxilos, através da técnica EPR e inibição da oxidação do LDL humano. A atividade antioxidante celular e o efeito antiproliferativo também foram avaliados em todas as variedades, usando células humanas modelo diferentes. O conteúdo polifenólico das cerejas também foi determinado com o objetivo de perceber quais as componentes responsáveis pelas atividades biológicas. A análise das principais componentes (PCA) foi usada para comparar os resultados obtidos para os 24 parâmetros avaliados em nove amostras.

2. Materiais e métodos

2.1 Reagentes

Metanol, 2',2'-azobis (2-amidinopropano) dihidroclorato (AAPH), 2',7'-dichlorofluoresceno diacetato (DCFH-DA), 6-hidróxido – 2,5,7,8-tetrametilo cromado-2-ácido carboxílico (trolox), ácido caféico, albumina sérica *bovina* (BSA), reagente de Bradford, 5,5--dimetil-1-pirrolino N-óxido (DMSO), peróxido de hidrogénio (H₂O₂) *brometo* de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazólio (MTT), solução-tampão de fosfato (PBS) e *terc-butil hidroperoxido* (t-BHP) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Quentin Fallavier, França). *Fluoresceína* sódica (FL) foi obtido de TCI europa (Antuérpia, Bélgica) e FeSO₄ de

Merck (Darmstadt, Alemanha). A lipoproteína de baixa densidade (LDL) foi adquirida de Calbiochem (Darmstadt, Alemanha). Todas as células de cultura média e suplementos, nomeadamente serum de bovino fetal (FBS), glutamina e RPMI 1640, foram obtidos de Invitrogen (Gibco; Invitrogen, Corporation, Paisley, UK). Recorremos aos padrões, para a análise HPLC, ácidos catequino, epicatequino e clorogénico, e ácido p-coumárico, todos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA), a quercetina-3-O-glucopiranosida, rutina, cianidina-3-glucosida e cianidina-3-rutinosida, todas de Extrasynthèse (Genay, France).

2.2 Cerejas

As cerejas doces dos cultivares de Morangão, Saco, Lapin, Garnet, Ulster, Maring, Summit, Van e Early Van Compact, crescidas na Cova da Beira, Portugal, foram aleatoriamente colhidas manualmente entre maio e junho 2008, no estado de maturidade comercial. Uma hora após a colheita, todas as amostras foram embaladas e congeladas a 20 °C durante 4-10 semanas antes de se levar a cabo a análise.

2.3 Extração

Prepararam-se os estratos de cereja, seguindo o método descrito por Gonçalves *et al.* (2004a) com algumas modificações. Os caroços das cerejas foram rapidamente removidos manualmente e tratados e a parte comestível do fruto foi liofilizada a 40 °C (Modulyo Edwards). As cerejas secas (5g) foram moídas e posteriormente extraídas com 100ml de MeOH 60% a 2000 rpm durante 10 minutos. Filtraram-se os homogenatos por vácuo e o solvente

evaporou no evaporador rotativo a 40 °C. Os restantes extratos foram diluídos em água destilada para fazer a concentração final de 0,2g de cereja seca/ml. Finalmente, os extratos de cereja foram filtrados por um filtro de 0,22 µm e armazenados a 20 °C para análise posterior.

2.4 Análise das componentes fenólicas totais

A concentração total das componentes fenólicas presentes nos extratos de cereja foi determinada de acordo com o método modificado de Folin Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965), como descrito anteriormente por Serra *et al* (2008). Os resultados foram expressos por equivalentes ao ácido gálico (GAE) em mg por 100g de peso seco (dw) de fruto comestível.

2.5 Análise de antocianina total

O conteúdo total de antocianina foi estimado pelo método diferencial de absorção de pH, como descrito por Wroslstad (2000). A breve trecho, a absorção dos extratos de cereja foram medidos a 510 e 700 nm em reguladores com pH a 1,0 (cloreto de potássio, 0,025 M) e 4,5 (acetato de sódio, 0,4 M). o conteúdo de antocianina foi calculado usando o coeficiente de extinção molar de 29,6 (cianidina-3-glucosida) e absorção de $A = [(A_{510} - A_{700})_{pH\ 1,0} - (A_{510} - A_{700})_{pH\ 4,5}]$. Os resultados foram expressos em mg equivalentes de cianidina-3- glucosida por 100h de peso seco de fruto comestível.

2.6 Análise HPLC de fenólicos e antocianinas

A análise HPLC de componentes fenólicas foi realizada usando o hidrógrafo de Thermo Finnigan com ensaio de detetor de diodo

(Thermo Finnigan-Surveyor, San Jose, CA, USA) e um detetor eletroquímico (Dionex, ED40) (Bravo, Silva, Coelho, Vilas Boas, & Bronze, 2006). Os dados dos sistemas foram adquiridos pela versão 4,0 de Chromquest (Thermo Finnigan-Surveyor, San Jose, Ca USA) e pelo *software* 4880 (UNICAM) do ensaio de diodo e detetor eletroquímico, respetivamente. A identificação de componentes foi feita comparando o tempo de retenção, espectros e amostras de grampos com quantidade conhecida de bases puras, sempre que disponíveis. As quantidades das diferentes componentes fenólicas foram avaliadas através de áreas máximas e foram calculados como equivalentes de seis componentes aleatórias representativas (por curvas de regressão aleatórias, lineares de preparados *standard* em solução de metanol e metanol diluído:água (50:50)). O ácido neoclorogénico, o ácido p-couma-rilquinico foram quantificados usando detecção de HPCL-DAD em 280 nm. Induz-se que o ácido neoclorogénico foi calculado com equivalentes do ácido clorogénico, atendendo a que o ácido p-coumaroilquinico foi determinado com equivalentes ao ácido coumarico. Demais a mais, os flavonoides, quervetina-3-glucosida e rutina, foram quantificados em 360 nm e obtiveram-se curvas de calibração usando componentes padrão. Finalmente, para a quantificação dos ácidos epicatequina e clorogénicos, foram usados detetores eletroquímicos (ED) devido a coeluição .

Para quantificação de antocianinas, uma fase móvel usada consistiu numa mistura gradual de eluente A água:ácido fórmico (90:10 v/v) e eluente B acetonitrilo:água:ácido fórmico (40:50:10 v/v/v). Usou-se p gradiente seguinte de eluentes: 0-15 min de 0% a 20% do eluente B; 10min com 20% do eluente B; 25-70 min, de 20% a 70% do eluente B; 70-75 min, com

70% do eluente B; 75-85 min de 70% a 100% do eluente B; 85-90min com 100% do eluente B; 90-95min de 100% a 0% do eluente B; e 95-100min 100% do eluente A. A taxa de fluxo do solvente foi de 0,7 ml/min. A aquisição de variedade foi estabelecida entre 190 e 700 nm e o cromatograma foi monitorizado em 527 nm. As glicosidas de cianidina foram quantificadas usando componentes base ao passo que pelargonidina-3-rutinosida, peonidina-3-glucosida e peonidina-3-rutinosida foram calculados como equivalentes de cianidina-3-glucosida.

Os coeficientes de variação das quantificações HPLC foram <5% e as concentrações finais foram expressas como mg/100g de peso seco.

2.7 Capacidade de absorção de radicais de oxigénio (ORAC)

Os ensaios de ORAC foram usados para avaliar a capacidade antioxidante das amostras perante os radicais peróxidos. Os ensaios foram levados a cabo seguindo o método de Huang, Ou, Woodill, Flanagan e Prior (2002) modificado por leitor fluorescente FL800 (Instrumentos Bio-Tek, Winooski, VT, USA), como descrito por Feliciano *et al.* (2009). Este ensaio mediu a capacidade das espécies antioxidantes em amostras de inibir a oxidação de disodium fluoresceína (FL) catalisado por radicais peroxilicos gerados por AAPH. Todos os dados expressaram-se como micromoles de um equivalente de trolox de capacidade antioxidante por grama de peso seco (1mol TEAC/g dw).

2.8 Capacidade Referente a Radicais Hidroxilos (HORAC)

Os ensaios HORAC foram baseados num método anteriormente referido (Ou *et al.*, 2002), modificado por leitor fluorescente, como descrito por Serra *et al.* (2010). O ácido cafeico foi usado como base, visto que providencia uma área linear mais vasta do que o ácido gálico (Dubost, Ou, & Beelman, 2007). Os dados foram expressos como equivalentes de micro-moles de ácido cafeico por grama de cereja seca (1mol CAE/g dw).

2.9 Radical hidróxilo (HO^A) capacidade de recuperação

A capacidade de recuperação de extratos do radical hidroxilo gerado pelo peróxido de hidrogénio (reação de Fenton) foi avaliada por ressonância paramagnética de eletrões (EPR), usando DMPO como agente *spin trapping*, como descrito anteriormente por Serra *et al.* (2009). Resumidamente, os radicais hidroxilos foram gerados através da adição de 100II de 10 Mm H₂O₂ a uma solução contendo 100II de DMPO (48 mM) e 100II de FeSO₄ (2 mM em solução reguladora de fosfato, pH 7,4).

Imediatamente, foram adicionados 100II de extratos de cerejas (200 mg dw/ml) ao sistema e o espectro de DMPO /HO^A foi registado 3 minutos depois. Foram executadas experiências de controlo pela adição de 100II de água destilada. A recuperação das capacidades dos extratos de cerejas foi determinada medindo as intensidades dos seus espectros e os resultados finais foram expressos como percentagens de inibição relativa ao controlo. Todas as medições EPR foram conduzidas usando um espectrómetro Bruker EMX6/1 (Bruker Instruments, Billerica, MA) e um conjunto de células planas. As experiências foram executadas em duplicado, a temperatura ambiente e pressão atmosférica.

2.10 Inibição de lipoproteína de baixa densidade (LDL) AAPH_A-induzida

A capacidade dos extratos de cereja inibirem a oxidação da LDL humana foi avaliada pela conjugação da formação de dienos, como anteriormente indicado por Serra *et al.* (2010). Neste ensaio clínico, a LDL humana (0,1 mg/ml) foi oxidada por radicais peróxilos gerados por AAPH^A (500 IM) e conjugadas por formações de dienos monitorizadas continuamente a 234 nm usando o espectrometro ThermoSpectronic Genesys10uv. O efeito protetor das cerejas (0,25 lg w/ml-concentração final do ensaio) foi atingido por retardação da fase de latência da oxidação de LDL humano. Os resultados finais foram expressos em termos de percentagem de retardação do tempo até ao controlo (sem extrato).

2.11 Capacidade antioxidante celular

Adquiriram-se células Caco2 do carcinoma do cólon humano de DSMZ (Alemanha), e foram rotineiramente aumentadas em RPMI 1640 suplementado com 10% de FBS e 2 Mm de glutamina. As células em stock foram mantidas numa única camada de 175cm² de culturas e incubadas a 37 °C numa atmosfera humidificada de 5% de CO₂.

Para avaliar a capacidade antioxidante celular dos extratos de cerejas, as células Caco2 foram plantadas numa densidade de 2 x 10⁴ células/poço em placa de criação de culturas de 96 poços, e o meio mudado a cada 48h. As experiências foram realizadas usando células completamente diferenciadas (após atingir a confluência ≈ 72 h). Foi avaliada a atividade antioxidante intracelular de extratos de maçã seguindo a formação de espécies reativas de oxigénio (ROS) em células Caco2 após o tratamento com dois

químicos de pressão: t-BHP e H₂O₂. A formação intracelular de ROS foi monitorizada usando uma sonda fluorescente, DCFH-DA, como descrito por Serra *et al.* (2009). Para o ensaio de pré-incubação diferenciador, as células Caco2 foram, brevemente, mergulhadas em PBS e incubadas por 4h com extratos de cereja (10 mg dw/ml). Depois as células voltaram a ser mergulhadas em PBS e incubadas com 100 µM DCFH-DA durante 30 min. Após a remoção do DCFH-DA e posterior mergulho, foram adicionados 2 mM t-BHP ou 10 mM H₂O₂ às células durante 60 min. Para o ensaio de co-incubação, os extratos de cereja foram adicionados às células Caco2 ao mesmo tempo que os químicos de pressão. Para ambos os ensaios, a fluorescência (F) foi medida por cada amostra no min 0 e no min 60 num leitor de microplacas de criação de culturas fluorescente. A atividade antioxidante células dos extratos de cereja foi expressa como a percentagem de inibição de ROS intracelular causada pela exposição aos oxidantes de pressão e foi calculada como $(1 - (F_{60 \text{ min}} - F_0 \text{ min}) / F_0 \text{ min}) \times 100$ contra o controlo (células sem extratos de cereja).

2.12 Atividade antiproliterativa

Ensaio sobre células antiproliferativas foram executados usando as células do cancro do cólon humano HT29 (ATCC, USA) e células do cancro do estômago humano MKN45 (amavelmente cedidas pelo DR. Celso Reis – IPATUIMUP, Portugal). Todas as linhas das células foram desenvolvidas em RPMI 1640 suplementado por 100% de FBS e 2mM de glutamina. O stock das células foi mantido numa única camada de 175 cm² de cultura e incubado a 37 °C num ambiente humidificado a 5% de CO₂.

Os ensaios antiproliferativos foram realizados, como referido anteriormente por Serra *et al.* (2010). Com brevidade, as células

foram cultivadas em 96 poços de criação numa densidade de 1×10^4 células por poço. Após 24 h de incubação a 37 °C em 5% de CO₂, o meio de cada poço é substituído pelo conteúdo médio de extratos de cereja (0-20 mg dw de cereja/ml). Após 96h de incubação, a viabilidade das células foi determinada usando um ensaio clorométrico MTT. Os resultados foram expressos em termos de % da viabilidade celular relativa ao controlo (células sem extratos de cereja) e a quantidade de amostra necessária para diminuir 50% de viabilidade celular, ED₅₀ (dose efetiva) também foi calculada. As experiências foram desenvolvidas em triplicado.

2.13 Tratamento de dados

O NTSYS (v 1,70, NTSYS-software de pc) foi usado como componente principal de análise (PCA).

3. Resultados e discussão

Duas variedades tradicionais de cereja e sete cultivares exóticos foram testados usando tanto ensaios com células livres e com células base, com o objetivo de estudar a sua atividade biológica.

Na primeira abordagem, os nove cultivares de cereja foram caracterizados em termos de componentes bioativas (polifenóis e antocianinas) usando HPLC. Usou-se hereina para deteção eletroquímica, não apenas para quantificar as componentes que coeluem, mas também para identificar ingredientes potencialmente antioxidantes como deteta electroquimicamente substâncias ativas (Feliciano *et al.*, 2009).

A atividade antioxidante foi avaliada usando quatro ensaios químicos diferentes e complementados por ensaios *in vitro*. Ensaios de ORAC e EPR medem as espécies potenciais de oxigénio reativo nocivo recuperável,

nomeadamente radicais peróxilos e hidroxilos, respetivamente. A HORAC avalia a eficácia da amostra para prevenir a geração de radicais hidroxilos e ensaios LDL a capacidade de proteger a lipoproteína humana de baixa densidade contra a oxidação. Além de que, a atividade antioxidante das variedades de cereja foi medida a nível celular, que I demonstrou alguma da complexidade dos sistemas biológicos, tendo em conta o transporte das componentes antioxidantes através das membranas das células, do possível metabolismo e localização celular. Neste estudo o efeito protetor dos extratos de cereja contra as espécies celulares de oxigénio reativo foi estudado em células Caco2 diferenciadas submetidas a *stress* oxidativo gerado por dois *stressores* químicos (t-BHP e H₂O₂).

Finalmente, o potencial das cerejas inibirem a proliferação de células cancerígenas humanas derivadas do cólon (HT29) e do estômago (MKN45) também foi avaliado.

Os resultados obtidos em todas as análises mostraram que, nove das variedades de cerejas têm diferentes conteúdos fenólicos (Tabela 1) e mostram atividades antioxidantes e antiproliferativas diferentes (Tabela 2).

Devido à grande quantidade de dados obtidos, a análise da componente principal (PCA) foi usada com o objetivo de distinguir as variedades de cerejas de acordo com a sua atividade biológica. Esta análise foi usada com sucesso no tratamento dos dados obtidos em estudos de diferentes qualidades de maçã (Serra *et al.*, 2010) e de vinhos (Feliciano *et al.*, 2009; Kallithraka *et al.*, 2001).

No presente trabalho, mediram-se 24 variáveis em nove qualidades de cereja e os dados foram analisados por PCA (Tabela 3). A percentagem cumulativa da variação total

explicou-se pelas duas primeiras

componentes terem 78,4%.

Tabela1

Características fenólicas das culturas de cereja^a

Cultura de cereja	TPC	TAC	TED	Flavan-3-ol		Hidroxicinamato			Flavonois		Antocianinas			
				Cat	Ep	NcAc	pCqAc	CAC	Rut	Q3g	C3g	C3r	Pl3r+Pn3g	Pn3r
EvCompact	956±23	224±10	98,3	5,8	1,8	55,8	3,7	3,0	31,7	3,3	26,4	206	3,6	2,0
Garnet	653±21	69±1	82,4	2,7	0,3	26,0	2,3	2,9	18,7	1,3	3,7	68,8	<1,0	<1,0
Lapin	1309±3	382±6	156,3	8,6	10,6	85,5	6,1	8,9	23,4	3,9	70,3	162	4,5	5,4
Maring	833±18	151±2	98,8	8,3	1,5	65,7	3,7	4,6	32,9	2,1	34,7	142	<1,0	<1,0
Morangão	555±14	5,6±0,1	81,2	3,8	2,4	74,3	5,6	4,6	14,9	0,8	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
Saco	1309±12	296±5	227,2	7,5	9,4	123	15,2	8,7	26,6	5,3	55,6	282	5,3	3,5
Summit	440±42	28,8±0,4	29,2	3,8	0,1	20,8	17,6	1,9	7,8	0,6	2,9	36,0	<1,0	<1,0
Ulster	1187±21	292±5	116,2	6,8	3,0	54,4	32,8	6,7	28,0	2,3	28,2	303	1,8	1,6
Van	999±22	251±4	114,0	7,4	2,6	61,9	4,6	5,3	34,2	35	70,1	253	1,8	2,5

TPC, conteúdo total polifenólico (exprimido em mg de equivalentes ao ácido gálico/100g dw); TAC, conteúdo total de antocianinas (exprimido em mg de equivalentescianidina-3-glucosida/10g dw); TED, área total de cromatograma obtido por detecção eletroquímica; Cat, catequinas; Ep, epicatequinas; NcAc, ácido neoclorogénico; pCqAc, ácido p-coumariloquinico; CAC ácido clorogénico; Rut, Rutina; Q3g quercetina-3-glucosida; C3g, cianidina-3-glucosida; C3r, cianidina-3-rutinosida; Pn3g, peonidina-3-glucosida; Pn3r, peonidina-3-rutinosida.

^aos resultados estão expressos em mg/100g de peso seco exceto no TED que corresponde a área total obtida no cromatograma por detecção eletroquímica. A quantificação dos coeficientes de variação de HPLC foi de <5%.

Construiu-se um diagrama bidimensional (Fig. 1) e a distribuição das culturas de cereja ao longo de PC1 e PC2 mostra que as amostras podem ser divididas em quatro grandes grupos: grupo A, que está localizado nos quadrantes I e III e inclui as qualidades de cereja Summit, Garnet e a tradicional Morangão, Grupo B, posicionado perto do centro do diagrama bidimensional, e abrange as cerejas Maring, Early Van Compact e Van; grupo C, situado no quadrante II, e inclui Lapin e a outra variedade tradicional (Saco); grupo D que corresponde a uma única variedade (Ulster), localizado no quadrante IV.

Para perceber quais as variáveis a ter mais em conta na distribuição obtida adicionaram-se estas ao diagrama bidimensional (Fig. 1). Os grupos C e D incluem as cerejas com maiores concentrações de componentes fenólicos e os melhores resultados de atividade antioxidante. Em particular, as variedades Saco e Lapin (Grupo C) exibem os valores mais elevados de ORAC e HORAC e foram as mais eficazes a inibir a oxidação do LDL humano (Tabela 2). Além disso, estas duas variedades distinguem-se das outras pelo seu maior conteúdo total de polifenóis, antocianinas e em particular, catequina, epicatequina, ácido neoclorogénico, ácido

clorogénico quercetina-3-glucosida, cianidina-3-glucosida, pelargonidina-3-rutinoside + peonidina-3-glucosida e peonidina-3-rutinoside. Estes resultados sugerem que estas componentes podem ser maiores contribuidores para os valores HORAC e ORAC obtidos e também pela capacidade de prevenir a oxidação LDL. De facto, obtiveram-se grandes correlações ($r>0,83$) entre a concentração total de polifenóis e antocianinas e as atividades antioxidantes medidas por ensaios de ORAC, HORAC e LDL (Tabela 4). De entre todas as componentes, os melhores coeficientes de correlação foram alcançados entre o ácido clorogénico e quercetina-3-glucosida em ensaios ORAC ($r = 0,888$; $0,878$, respetivamente), HORAC ($r = 0,883$; $0,846$, respetivamente) e LDL ($r = 0,864$; $0,821$, respetivamente). Em adição, o peonidino-3rutinosido também exibe um efeito importante na prevenção da capacidade das cerejas inibirem a oxidação da LDL humana ($r = 0,870$). É importante de salientar que todas as componentes foram detetadas por HPLC no modo de detecção eletroquímica (Fig 2) que é uma ferramenta importante para detetar substâncias com atividade antioxidante. Estudos anteriores com maçãs e vinhos relataram boas correlações entre a

Tabela 2

Atividades antioxidantes e antiproliferativas das variedades de cereja^a

Cultivos de cereja	Atividade antioxidante <i>in vitro</i>			LDL ^e	Atividade antioxidante celular ^f		Atividade antiproliferativa ^g	
	ORAC ^b	HORAC ^c	EPR ^d		t-BHP	H ₂ O ₂	HT29	MKN45
EVCompact	120±8	64±2	30,4±2,2	5,6	21,0±3,0 co 13,6±2,4 pre	19,2±1,7 co 13,4±1,7 pre	6,2±1,1	9,8±2,8
Garnet	66±5	49±6	41,5±3,6	3,7	13,2±1,3 co 14,6±2,3 pre	12,0±2,0 co 11,6±2,4 pre	6,9±0,2	13,8±2,5
Lapin	177±7	93±6	50,4±0,2	8,2	29,8±3,6 co 19,0±2,2 pre	31,3±4,6 co 15,8±3,5 pre	5,9±0,5	10,5±0,7
Maring	104±6	65±6	32,1±6,2	5,2	10,7±2,0 co 13,5±1,8 pre	20,1±1,6 co 19,7±3,2 pre	6,4±0,6	11,0±0,1
Morangão	66±8	44±5	32,1±3,1	4,2	15,1±1,5 co 16,0±1,1 pre	15,0±1,9 co 14,7±2,9 pre	13,8±1,8	16,3±1,1
Saco	172±7	132±6	41,7±2,0	6,5	23,9±3,0 co 15,4±1,8 pre	33,7±6,1 co 16,6±3,3 pre	5,4±0,4	6,5±0,6
Summit	50±7	24±2	56,5±1,8	2,5	3,3±0,7 co 7,0±1,5 pre	6,6±1,0 co 8,4±2,7 pre	9,4±1,1	15,9±1,9
Ulster	156±5	103±8	68,4±3,6	5,8	19,3±1,0 co 15,1±2,2 pre	32,6±5,0 co 20,3±1,5 pre	4,3±0,1	5,6±1,2
Van	122±7	67±1	42,8±7,6	5,6	21,6±4,1 co 14,6±4,0 pre	26,3±4,0 18,9±1,8 pre	5,0±0,3	6,2±1,6

^aValores expressos como significado de pelo menos três réplicas ± derivação standard

^bensaio de capacidade de absorção de radicais de oxigênio. Resultados expressos em µmol de equivalentes de trolox/g dw

^censaio de capacidade de absorção de radicais hidroxilos. Resultados expressos em µmol de equivalentes a ácido cafeico/g dw

^dcapacidade de recuperação dos extratos de cereja contra os radicais hidroxilos, medidos pela técnica de ressonância rotativa de electrons paramagnéticos. Os extratos de cereja (50mg dw/ml-concentração final no ensaio) foram adicionados à solução que continha 2,5mM H₂O₂, 12 mM DMPO e 0,5 mM Fe₂SO₄ e os resultados foram expressos em termos de percentagem da redução relativa ao controlo (sem extratos de cereja)

^eensaio de oxidação de lipoproteína de baixa densidade. Efeito dos extratos de cereja (0,25µg dw/ml concentração final no ensaio) na oxidação de AAPH (500µM) induzido de LDL humano (0,1mg/ml). Resultados expressos com tempo de atraso relativamente ao de controlo. Coeficientes de variação <10%.

^fEfeito dos extratos de cereja (10mg dw/ml de concentração final do ensaio) em t-BHP (2 mM) ou H₂O₂ (10mM) induzido em espécies de oxigênio reativo em células Caco2 medido por oxidação de diclorofluorescina. Valores de ensaios de pré-incubação (pre) e incubação (co) expressos na % da capacidade de inibição relativa ao controlo

^gvalores efetivos de dosagem (ED₅₀) de cerejas (expresso em mg/ml) em ensaios de antiproliferação HT29 e MKN45. Incubaram-se células do cancro do cólon e gástrico durante 96h com extratos de cereja e a viabilidade das células foi acedida através do ensaio MTT.

área total do cromatograma eletroquímico (TED) e valores ORAC das amostras (Feliciano, Serra, Duarte, Carvalho, & Bronze, 2007; Feliciano *et al.*, 2009). Neste estudo, as cerejas do grupo C mostraram os valores mais altos de TED e foram obtidos elevados coeficientes de correlação entre ensaios de antioxidantes ORAC ($r = 0,856$), HORAC ($r = 0,940$) e LDL ($r = 0,787$) (Tabela 4). Além disso, as componentes fenólicas identificadas na Fig. 2 já tinham sido relatados por outros autores por serem substâncias antioxidativas nas cerejas. Por exemplo, Piccolella *et al.* (2008) estudou as propriedades antioxidantes dos extratos metanólicos de extratos de cerejas amargas e descobriram que os flavonoides (incluindo catequinas, epicatequinas, quercetinas e antocianinas) e derivados de ácido quínico (ácido clorogénico, ácido neoclorogénico) foram as substâncias mais ativas na recuperação de radicais livres ($O^{\bullet}2^A$, NO e ABTS⁺). A

cianidina e seus derivados também foram reconhecidos por serem contribuidores significativos para a atividade antioxidante medida em ensaios ABTS, e produtos doces de cereja (Kyrakosyan, Seymour, Llanes, Kaufman, & Bolling, 2009). Através de ensaios ORAC, Blando *et al.* (2004) descobriram que os valores antioxidantes das cerejas foram relatados pelo seu conteúdo total de antocianina, ao passo que, através dos ensaios HORAC, até à data, não foram publicados sobre amostras de cerejas. No nosso estudo anterior com cultivares de maçã obtivemos boas correlações ($r > 0,725$) entre os valores antioxidantes por ORAC e HORAC com catequina, epicatequina e ácido clorogénico, sugerindo que estas componentes são os maiores contribuintes para a capacidade antioxidante em matrizes de vários frutos. Relativamente a ensaios LDL, Gonçalves *et al.* (2004b) relatou que a atividade antioxidante de cerejas

portuguesas em LDL humana tendem a correlacionar com concentrações de catequinas. Em contraste com os nossos resultados, estes autores encontraram uma correlação negativa com níveis de cianidina-3-rutinosida e indica ácido *p*-coumaroilquinico como o maior contribuinte da atividade antioxidante das

Tabela3
Números e abreviaturas de 24 variáveis consideradas PCA

Número	abreviatura	designação variável
1	TPC	concentração total polifenolica
2	TAC	concentração total de antocianina
3	Cat	conteúdo de catequina
4	Ep	Conteúdo de epicatequina
5	NcAc	conteúdo de ácido neoclorogenico
6	pCqAc	conteúdo de ácido p-coumaroilquinico
7	CAC	conteúdo de ácido clorogenetico
8	Rut	conteúdo rutina
9	Q3g	conteúdo Quercetina-3-glicosida
10	C3g	conteúdo de cianidina-3-glicosida
11	C3r	conteúdo cianidina-3-rutinosida
12	PI3r + Pn3g	conteúdo de pelargonidina-3- rutinosida + peonidina-3-glucosida
13	Pn3r	peonidina-3-rutinosida
14	TED	área total electroquimica
15	ORAC	capacidade de recuperação de ROO medido em ensaio ORAC
16	HORAC	Prevensão da formação de HO medido por ensaio HORAC
17	EPR	capacidade de recuperação de HO medido por ensaio EPR
18	LDL	inibição da oxidação de LDL
19	H ₂ O ₂ pre	capacidade antioxidante celular através de H ₂ O ₂ induzido por stress oxidativo (preincubação)
20	H ₂ O ₂ co	capacidade antioxidante celular através de H ₂ O ₂ induzido por stress oxidativo (coincubação)
21	t-BHPpre	capacidade antioxidante celular através de H ₂ O ₂ induzido por stress oxidativo (preincubação)
22	t-BHPco	capacidade antioxidante celular através de H ₂ O ₂ induzido por stress oxidativo (coincubação)
23	HT29	valores de ED50 através da proliferação de HT29
24	MKN45	valores de ED50 através da proliferação de MKN45

Entre todas as componentes estudadas no nosso trabalho o ácido *p*-coumaroilquinico foi identificado como sendo o único responsável pela capacidade de recuperação de radicais hidroxilos (ensaio RPR) em culturas de cerejas ($r = 0,851$, Tabela 4). O maior conteúdo deste ácido fenólico foi detetado nas cerejas

cerejas. Esta diferença pode dar-se devido ao uso de diferentes indutores no ensaio de oxidação; no nosso trabalho, usou-se uma componente azo (AAPH) que gera radicais peróxilos por decomposição termal, enquanto Gonçalves *et al.* (2004a, 2004b) usou a transição de iões de metal derivado de CuSO₄.

Ulster, a variedade de cereja mais eficaz na redução do espectro EPR (Tabela 2). É importante ter em conta que estas duas variáveis, em conjunto com o efeito antoproliferativo poderoso em células do cancro do cólon e gástrico humano (valores ED₅₀ mais baixos), contribuíram para distinguir estas cerejas das outras – grupo D (Fig. 1). Como mostrado na Tabela 2, as cerejas Ulster exibem o maior efeito antiproliferativo em ambas células cancerígenas, seguidas das cerejas Saco, Van e Lapin, que foram as variedades que mostraram maiores conteúdos de antocianinas. Por conseguinte, os resultados obtidos da correlação das análises mostra que o total de antocianinas e, em particular, cianidina glicosida, são as maiores componentes responsáveis pela capacidade de inibição do crescimento das células cancerígenas do cólon e gástricas (Tabela 4). Estas substâncias frequentemente referidas pelas suas atividades anticarsinogénicas nos modelos de células das culturas e também em modelos de tumor dos sistemas animais (Wang & Stoner, 2008).

Além disso, as cerejas dos grupos C e D distinguem-se das outras devido a sua maior atividade antioxidante em ensaios celulares (Fig. 1). Pela metodologia de coincubação (quando as células foram coincubadas com extratos de cereja mais stressadores químicos), o conteúdo fenólico total e, em particular, a concentração total de antocianinas de cereja parece ser o maior fator responsável pela proteção antioxidante celular ($r > 0,85$, Tabela 4). De facto, as cerejas com maior concentração total de antocianinas ($> 200\text{mg}/100\text{g dw}$, Tabela 1), nomeadamente Saco, Lapin, Ulster, Early Van Compact e Van, foram as que exibiram maior efeito antioxidante em dois ensaios de coincubação (Fig. 3). Quando comparados os resultados obtidos em testes de co e pré incubação, estas cinco culturas mostraram uma diminuição significativa da proteção

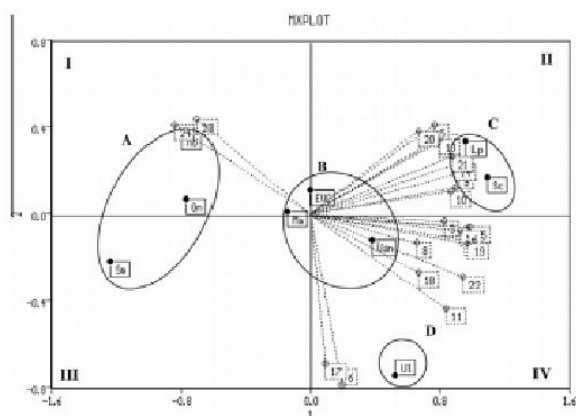


Fig. 1. Distribuição dos componentes de nove variedades portuguesas de cereja 1 (PC1) e 2 (PC2) usando 24 variáveis

antioxidante em ensaios posteriores. Esta diferença pode ser explicada pela presença de antocianinas, que são componentes com baixa absorção celular Caco2 de camada única mas poderosos a recuperar radicais livres extracelulares (Yi, Akoh, Fischer, & Krewer, 2006). As outras quatro culturas mostraram resultados semelhantes em ambos os ensaios, o que significa que componentes fenólicas com maior permeabilidade a Caco2 podem ser os principais agentes responsáveis pela resposta celular antioxidante. Por consequência, segundo os ensaios de pré incubação, as melhores correlações foram obtidas entre concentrações dos ácidos t-BHPpre e

clorogénico ($r = 0,735$) e conteúdos de H_2O_2 pre e catequina ($r = 0,753$) e rutina ($r = 0,784$) (Tabela 4). Estas componentes já foram relatadas como tendo boa absorção (Deprez, Mila, Huneau, Tome & Saclbart, 2001; Konishi & Kobayaski, 2004) e também proteção antioxidante nas células Caco2 submetidas a stress oxidante (Aherne & O'Brien, 1999). Por conseguinte, os resultados obtidos com diferentes variedades de maçãs mostrou que catequina é o maior contribuinte para a proteção intracelular antioxidante no mesmo modelo celular (Serra *et al.*, 2010).

As amostras do grupo B estão localizadas no centro do diagrama bidimensional e incluem as variedades de cereja com conteúdos moderados de polifenólicos, atividades antioxidante e antiproliferativas (EVCompact, Maring e Van) (Fig. 1). De entre as três, a variedade Van tinha a maior concentração de componentes fenólicas e bioatividade, que são as variáveis a ter mais em contra para PC1.

Finalmente, o grupo A inclui as cerejas Summit, Garnet e tradicional Morangão, que são as variedades com menor conteúdo fenólico, atividades antioxidantes e efeitos antiproliferativos.

Tabela 4

Correlação de coeficientes entre conteúdo fenólico e ensaios antioxidantes e antiproliferativos

	ORAC	HORAC	EPR	LDL	H_2O_2 pre	H_2O_2 co	BHPpre	BHPco	HT29	MKN45
TPC	0.994	0.931	0.154	0.923	0.630	0.965	0.652	0.872	-0.752	-0.847
TAC	0.972	0.832	0.192	0.916	0.583	0.915	0.573	0.850	-0.808	-0.841
TED	0.856	0.940	-0.071	0.787	0.498	0.856	0.644	0.783	-0.509	-0.674
Cat	0.823	0.680	-0.027	0.831	0.753	0.802	0.442	0.608	-0.528	-0.711
Ep	0.825	0.783	0.100	0.844	0.298	0.766	0.655	0.801	-0.344	-0.421
NAC	0.721	0.794	-0.211	0.724	0.506	0.744	0.620	0.689	-0.149	-0.472
CAC	0.888	0.883	0.233	0.864	0.604	0.913	0.735	0.797	-0.422	-0.607
pCqAc	0.283	0.370	0.851	-0.014	0.195	0.337	-0.205	-0.063	-0.294	-0.360
Rut	0.604	0.524	-0.339	0.605	0.784	0.634	0.419	0.530	-0.614	-0.799
Q3g	0.878	0.846	-0.162	0.821	0.439	0.820	0.512	0.820	-0.680	-0.770
C3g	0.818	0.661	-0.029	0.842	0.589	0.800	0.522	0.769	-0.640	-0.737
C3r	0.829	0.813	0.191	0.639	0.674	0.850	0.316	0.619	-0.859	-0.990
PI3r + Pn3g	0.806	0.771	-0.092	0.766	0.131	0.680	0.465	0.784	-0.493	-0.507
Pn3r	0.805	0.640	0.092	0.870	0.210	0.699	0.613	0.848	-0.476	-0.433

ORAC, ensaio de capacidade de absorção de radicais de oxigénio; HORAC, ensaio de capacidade de referência de radicais hidroxilos; EPR, capacidade de recuperação através de radicais hidroxilos medidos pela técnica de rotação paradigmática de electrodos; LDL, ensaio de oxidação de lipoproteína de baixa densidade; H_2O_2 pre, ensaio sobre a actividade celular antioxidante contra peróxido de hidrogénio induzido por stress oxidativo de pré-incubação; H_2O_2 co, ensaio sobre a actividade celular antioxidante contra peróxido de hidrogénio induzido por stress oxidativo de co-incubação; t-BHPpre, ensaio sobre a actividade celular antioxidante contrat-butil hidroperóxido induzido por stress oxidativo de pré-incubação; t-BHPco, ensaio sobre a actividade celular antioxidante contrat-butil hidroperóxido induzido por stress oxidativo de co-incubação; HT29, efeito antiproliferativo de células do cancro do colon; MKN45, efeito antiproliferativo de células do cancro gástrico; TPC, conteúdo total polifenólico; TAC, conteúdo total de antocianina; TED, área total electroquímica; Cat, catequina; Ep, epicatequina; NAC, ácido neoclorogénico; CAC, ácido clorogénico; pCqAc, ácido p-coumaroilquinico; Rut, rutina; Q3g, quercetina-3-glucosida; C3g, cianidina-3-glucosida; C3r, cianidina-3-rutinosida; PI3r + Pn3g, pelargonidina-3-rutinosida + peonidina-3-glucosida; e Pn3r, peonidina-3-rutinosida

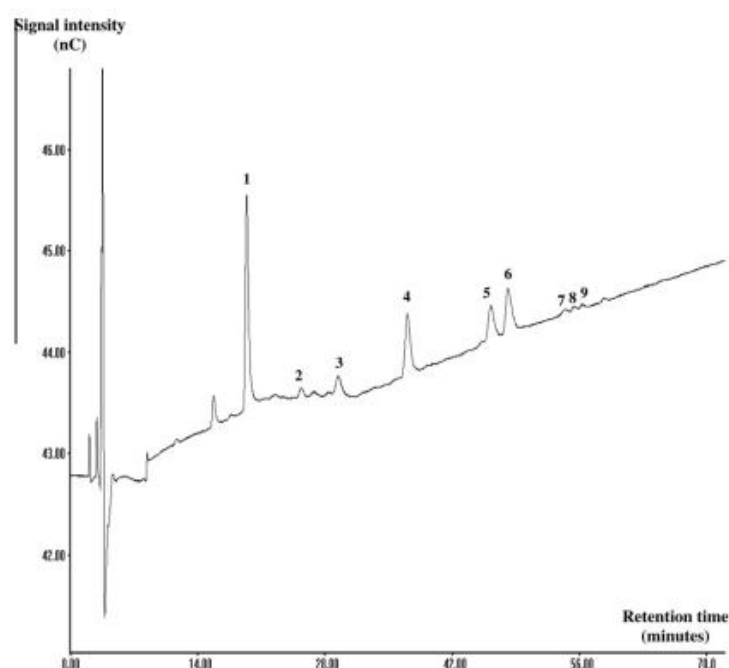


fig. 2. perfil cromatográfico dos extractos de cereja Saco usando legenda ED: 1 - ácido neoclorogénico; 2- catequina; 3- ácido clorogénico; 4- epicatequina; 5- cianidina-3-glucosida; 6- cianidina-3-rutinosida; 7- peonidina-3-rutinosida; 8- rutina; 9 - quercetina-3-glucosida

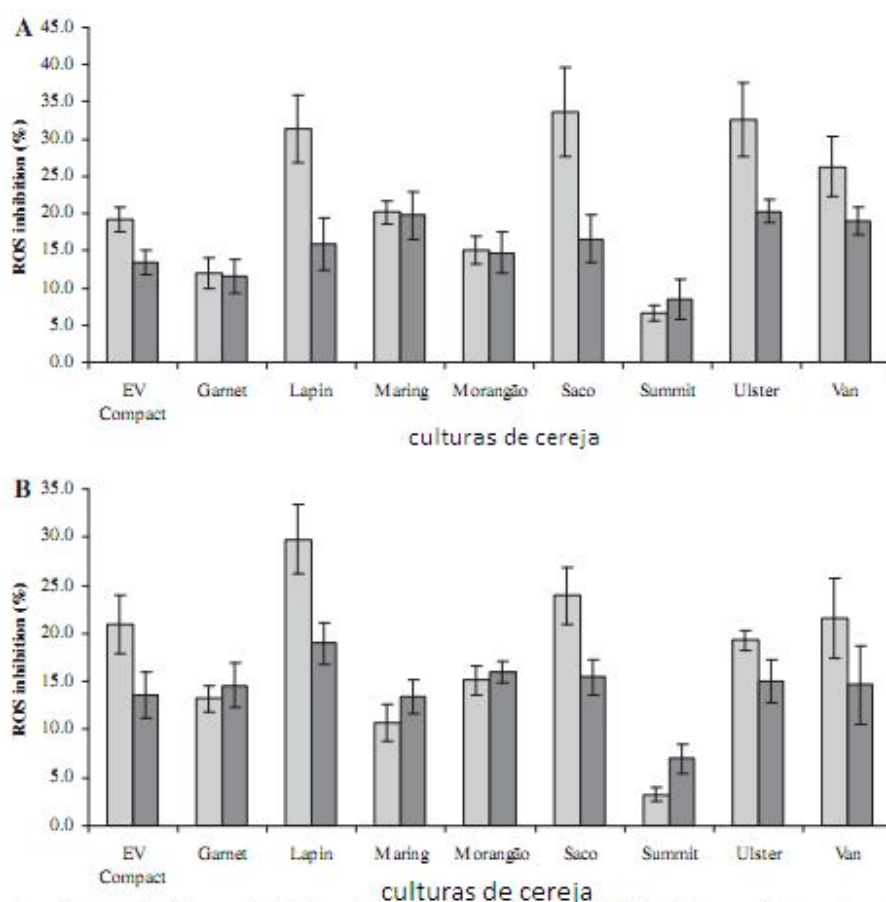


FIG 3. efeitos dos extractos de cereja (10 mg dw/ml) em (A) H₂O₂ e (B) t-BHP ROS induzido em células Caco2, medidos por 2',7' oxidação diclorofluoresceína. Ensaio de comparação entre co-incubação (□) e pre-incubação (■)

Conclusões

O estudo descreveu, pela primeira vez, as atividades biológicas de duas variedades tradicionais de cereja portuguesa (Saco e Morangão). Os resultados indicaram que a variedade Saco é uma variedade rica em ingredientes bioativos com grande capacidade antioxidante e efeito antiproliferativo em células de cancro humanas. Esta variedade tradicional e as variedades exóticas Lapin e Ulster podem ser

considerados alimentos promissores funcionais para aplicações na saúde humana.

Agradecimentos

Os autores são gratos ao Engenheiro Matos Soares e Luís Martins por providenciarem as amostras de cerejas. Ana T. Serra agradece o apoio funcional recebido pela FCT (Fundação para a Ciência e Tecnologia) através da doação SFRH/BD/19238/2004.



FEATURE / By Julie Weingarden-Dubin / Photographs by Erika Larsen

*From cranberries to onions, food fights diseases
of the heart, brain and body.
It can actually heal us.*

Food Rx

Mystery surrounds our daily bread—more than we really know. In fact, it may be the key to our emotional, mental and physical longevity.

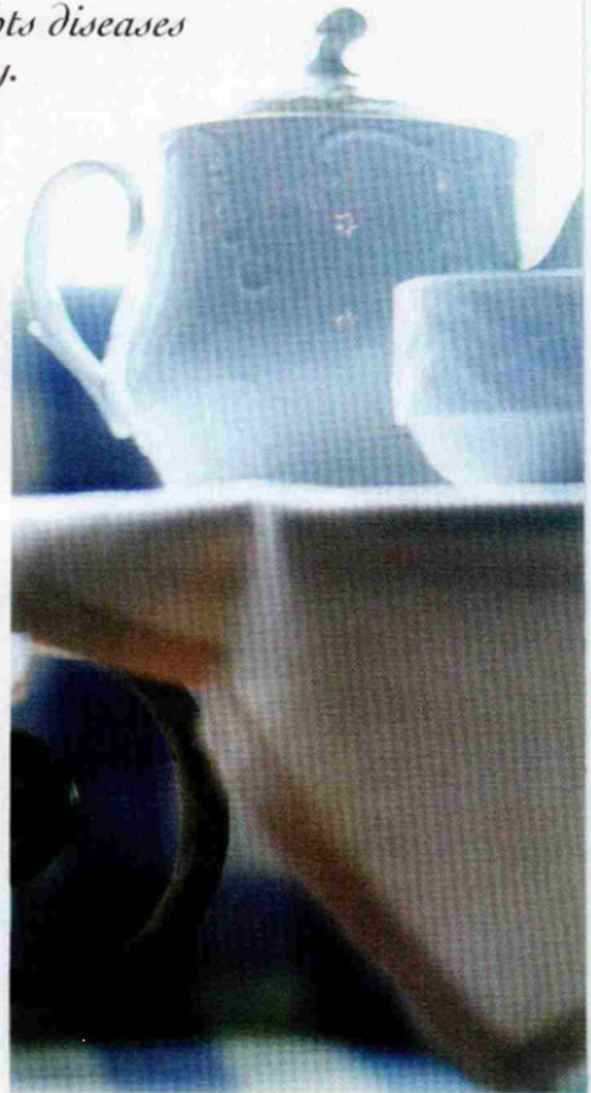
➤ **FOOD IS GLORIOUS.** IT feeds us in every way—not only physically but emotionally. Just take a tour of the Food Network. Food elicits all sorts of emotions: The exciting, “bam,” Emeril. Nigella bites, with passion. The winking Naked Chef. And mystery when east meets west with Ming.

But food is more than just delectable and sustaining. It can actually heal us. Nutrients fight diseases of the heart, help prevent cancer and even keep the brain sharp.

“Food has health benefits beyond basic nutrition,” says Cheryl Toner, M.S., R.D., director of health communications at the International Food and Information Council Foundation (IFIC). We know fruits and vegetables have vitamins and that unprocessed foods are best, but what do whole grains, fruits and vegetables really do for us? Experts believe the foods we eat are a power source that helps our bodies resist disease as well as prolong cognitive function and improve mood.

Remember when you ate berries for vitamin C? Today, studies suggest that berries also contain antioxidants that fight cell damage. Indeed, the growing popularity of alternative health is putting a spotlight on food, pushing people to look beyond traditional medicine for answers on how to cure and prevent disease. Good food, combined with exercise, may be just the ingredient for a healthy mind and body. By taking control of your health, you will even lift your mood.

According to the IFIC, most Americans believe that they have at least moderate control over their health and that nutrition plays a role even more significant than exercise and family-health history. “Foods for treatment and prevention of disease is an exploding area,” says Andrew Weil, M.D., director of integrative medicine at the University of Arizona, in Tucson. “Any medical journal shows how groups of foods or food components affect health.”



If you've heard anything about foods' magical powers, it was likely linked to antioxidants. They neutralize cell-damaging agents and possibly reduce your risk of disease. Antioxidants occur naturally in foods of various types such as fruits, vegetables, nuts, fish oil, tea and numerous others.

Still, “there is some excessive hype,” says Walter Willett, M.D., Dr.P.H., Harvard School of Public Health nutrition department chair. Antioxidants aren't a cure-all. “However, we are learning that foods have many more important functions than we had recognized earlier. For example,



polyunsaturated fats do much more than lower blood cholesterol levels. They can help prevent blood clots and lower the odds of developing fatal heart rhythms."

The role of essential fatty acids is another huge area of research. Says Weil, "They improve mental function and

protect against heart disease and inflammation. The average American diet is seriously deficient in omega-3 fatty acids, and that has health consequences." Good sources for omega-3s include fish, certain seeds and walnuts.

Plant-based foods such as vegetables, fruits, soy and

whole grains are also recommended as part of an optimal diet. These contain phytochemicals, natural agents which help strengthen the immune system and protect against disease.

Phytochemicals are found in foods such as garlic, legumes and nuts, among many others. "Fruits and veg-

etables don't contain disease-promoting substances; they contain thousands of protective substances," says book author Dean Ornish, M.D., president and director of the nonprofit Preventive Medicine Research Institute in Sausalito, California. "It's not just what you exclude from your diet, it's what you



Soy protein is believed to reduce the risk of heart disease by lowering cholesterol

>

include that's important."

Learning about foods is only part of the goal. To live a healthier life, you may need to change your ways. Shopping for, preparing and eating foods differently may be in order. Making the switch from chips to veggies isn't easy, so how do we find the motivation?

For one thing, using the fear of death to motivate people doesn't work, says Ornish. However, "when you begin making changes in your diet and lifestyle, you start to feel better. You have more energy; you think more clearly; your brain and heart get more blood; you don't need as much sleep and you have more stamina."

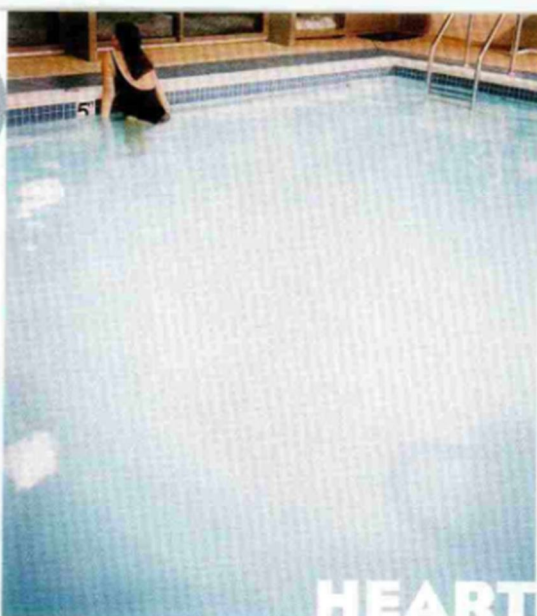
New information surfaces continually, so it can get confusing. To decide what makes sense for you, read, consult your doctor or nutritionist and explore new foods. "Try making changes even if it's just for a week. You'll learn from experience how much better you feel. It's a much more organic way of changing," says Ornish. And, as Willett notes, "Decisions about eating shouldn't be made on the basis of a single

study; confirmation from various reputable sources is important." That's why PT has put together some of the most recent findings. From ginkgo to omega-3s, here are some studies that show the benefits.

HEART

To protect your heart, you already know that you need to exercise and eat a diet low in saturated fats. But recent studies show benefits in foods you may not have considered. Soy, for one, is believed to reduce the risk of heart disease by lowering cholesterol. Many experts recommend 25 grams of soy protein a day. A study published recently in *Diabetes Care* shows that soy may help reduce the risk of heart attacks and strokes in postmenopausal women because it contains the antioxidant isoflavones. You can get soy in many forms: edamame (steamed soybeans), tofu and soynuts, for example.

Nuts also have heart-healthy effects, although they were once feared because of their high-fat content. But the Harvard



HEART

Nurses' Health Study found that women who ate an ounce of nuts at least five times a week for 14 years lowered their risk of heart disease by about 30 percent.

Nuts have monounsaturated and polyunsaturated fats, and according to the IFIC, individuals with diets high in these fats enjoy lower levels of bad cholesterol. Saturated fats, on the contrary, increase "bad," low-density lipoprotein (LDL) cholesterol. Other foods high in healthy fats include avocados, soybean oil and olive oil.

Omega-3 fatty acids are an equally important fat component that is found in abundance in oily fish such as salmon and mackerel, and to a lesser extent in other forms of seafood. These fatty acids help maintain and repair brain cells, which are made of fat. They also reduce the risk of chronic diseases such as coronary heart disease, stroke and cancer. A study published in the *American Journal of Clinical Nutrition* found that sudden cardiac deaths occur less frequently in those who

eat ocean fish.

When listing heart-healthy ingredients, don't forget wine and beer. We all know that moderate alcohol consumption can help prevent heart disease, but the latest research indicates that how often you drink may be more important than how much or what you drink. A recent study from Beth Israel Deaconess Medical Center in Boston reported that people who drink alcohol at least three times a week are less likely to develop heart disease than are nondrinkers and less-frequent drinkers—regardless of what is preferred: beer, wine or spirits.

In another report, published in the *European Journal of Clinical Nutrition*, Dutch researchers studied beer-drinking with dinner. In the study of middle-age adults, levels of C-reactive protein, a compound associated with inflammation and blood clots, declined.

Indeed, wine, soy, nuts and fish are well-known for their heart-healthy benefits. But here are some surprising additions: Honey and choco-

You say tomato

The natural defense of antioxidants

Fresh on a slice of toast or stewed in a pot of sauce, the tomato may well be one of nature's more flawless creations. But there's more to this fruit than just its satisfying taste. The tomato is filled with lycopene—an antioxidant that benefits many areas of health. For example, researchers from Harvard have found that tomatoes reduce the risk of a variety of cancers including prostate, breast and ovarian. And in other research, tomatoes have been shown to lower blood pressure in hypertensive patients—a good sign for improving cardiovascular health.



"People self-regulate their mood continually with food, usually sugar and fatty foods. It immediately makes them feel better, but unfortunately the effect is short-term."



late, and the darker the better. Apparently, honey has the same heart-healthy, plaque-fighting antioxidants found in foods such as spinach and apples. At the University of Illinois at Urbana-Champaign, a five-week study of men between ages 18 and 68 found that antioxidant levels in their blood increased after drinking water with honey.

Chocolate helps your heart as well. Its flavonoids, a family of antioxidants, help the body resist cell damage from free radicals. And, in turn, the sweet may decrease your risk for stroke and heart disease.

MEMORY

Exercising your brain with crossword puzzles may help keep your thinking cap in order, but studies show that what you eat helps as well. The antioxidants in cranberries, for example, may have anti-aging effects. According to the Human Nutrition Research Center on Aging at

Tufts University, cranberries help protect the brain from neurological damage.

Certain foods can also prevent other cognitive-related problems. Linoleic acid is nutritionally essential. It can be found in seed oils such as safflower and sunflower and, according to a Loyola University Medical Center study, may help control hypertension and thus prevent stroke, the nation's third-leading killer.

Equally important is what you drink. According to a recent study published in *Neurology*, people who drink wine moderately have a lower risk of developing dementia, including Alzheimer's disease. Red wine is especially favorable because it is high in flavonoids. On the other hand, the study also found that occasional beer drinking was associated with an increased risk of developing dementia.

And antioxidants, of course, are important in

maintaining cognitive ability. These disease-fighting agents came into play once again in two recent studies published in the *Journal of the American Medical Association*. Researchers found that diets rich in antioxidants—especially vitamin E—may help protect against Alzheimer's.

CANCER

Don't forget your fruits and vegetables. Cruciferous vegetables such as broccoli and watercress contain phytochemicals called isothiocyanates that help our bodies to break down potential carcinogens. Bok choy, brussels sprouts, cauliflower, kale, mustard greens—there are countless cruciferous vegetables that will give you what you need.

A diet rich in vegetables from the allium food group, such as garlic, shallots and onions, reduce the risk of prostate cancer, according to a study by the National Cancer Institute. Scallions offer the most protection, but if you prefer garlic, the study suggests that one clove a day will suffice.

Similarly, fruits have these protective powers, as well. Tomatoes, for instance, con-

tain lycopene, which protects cells against carcinogens. Or, if you prefer, a daily serving of berries protects against cancer, as well.

Several studies have found health benefits in berries. Researchers at Ohio State University discovered that berries stop tumors from growing in rats. Black raspberries are considered the most potent because they contain compounds such as anthocyanins—believed to protect against heart disease by lowering LDL cholesterol. Berries are also high in phenols such as ellagic acid, an antioxidant that protects the body's cells.

MOOD

"People self-regulate their mood continuously with foods, usually through sugar and fatty foods," says Robert Thayer, Ph.D., professor of psychology at California State University, Long Beach. "It immediately makes them feel better, but unfortunately the effect is short-term."

Thankfully there are healthful foods that can help lift your spirits. Recent research, published in *Brain, Behavior, and Immunity*,

In the joints

Go for the right balance in proteins

For healthy joints, protein is necessary in your daily diet. Yet the average American loads up on red meat, a protein high in saturated fat. Substituting fish for meat, however, is one simple change you can make. Fish is relatively low in saturated fat, and it contains polyunsaturated fatty acids, or omega-3s. These essential fatty acids have been shown to help reduce inflammation of the joints. Other alternative protein sources for joint health are soy and legumes such as lentils and black beans.



Up in smoke

Fresh ways to kick the nicotine habit

Quitting smoking isn't easy: 70 percent of smokers have made at least one failed attempt. Patches, gums and nasal inhalers provide nicotine without the cigarette. So, many smokers just trade their cigarettes in for gum. Now there are more natural ways to fight nicotine addiction. Exercise, for example, distracts you and increases serotonin to improve mood; as do natural boosters including St. John's wort and valerian. Other alternatives such as nicotine-free homeopathic gum are also available.

> reports that there is a link between the amino acid tryptophan and mood changes. Researchers lowered the level of tryptophan in 27 volunteers—16 of whom had an immediate relative with major depression.

Study authors found that depression occurred in half of the subjects who had a family history of depression, but in only 9 percent of those with no such family history. Foods such as turkey, milk and bananas contain tryptophan.

Additional research shows that chocolate benefits mood. Phytochemicals in chocolate trigger the same reactions as some antidepressants, according to a recent study in the *American Journal of Psychiatry*. The study authors found that chocolate releases endorphins, proteins with analgesic properties that occur naturally in the brain. But don't overdo it on a box of chocolates; just a tiny bit will give you a boost.

"By no means are we fully up to date on what science can tell us about the benefits of certain foods, particularly regarding mood," says Thayer. "Try a food pattern, observe yourself and see if it works for you."

Phytochemicals in chocolate trigger the same reactions as some antidepressants

OSTEOPOROSIS/MENOPAUSE

Milk isn't the only thing that prevents bone deterioration. Tea contains fluoride and flavonoids that include estrogenlike plant derivatives—both of which may enhance bone strength. A Taiwanese study published in the *Archives of Internal Medicine* surveyed 1,037 men and women who were longtime tea drinkers. Increased bone density was found in people who drank an average of two cups a day of black, green or oolong tea for at least six years.

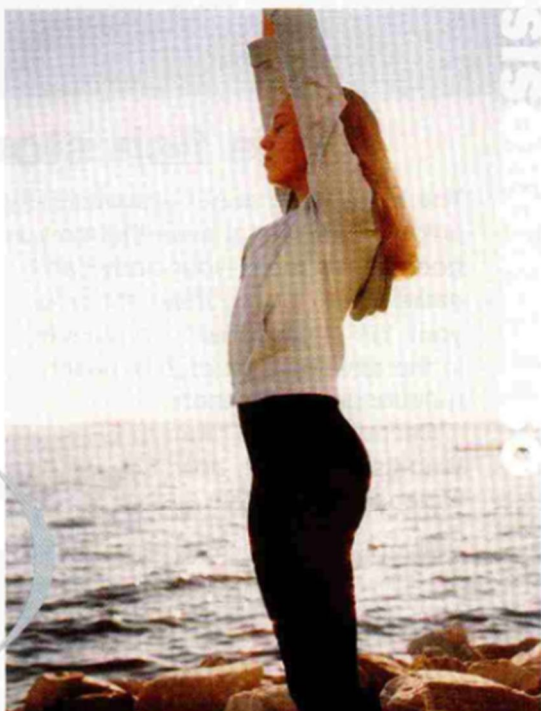
There are many foods helpful in keeping a strong frame, including collards, broccoli, sesame seeds, sardines and, yes, soy. Postmenopausal women with high concentrations of soy in their diet had stronger bone health according to a study

at the University of Illinois at Urbana-Champaign. "Regular inclusion of soy in the diet protects the bones," says Weil. "But it's important for young women to know that you can't reverse osteoporosis by suddenly trying to increase your calcium intake at menopause."

Soy is also important in reducing postmenopausal symptoms. An Australian study of 58 women found a 40 percent decrease in hot flashes among those who consumed 45 grams of soy flour a day over a 12-week period. Not a bad alternative to hormone replacement therapy (HRT), especially in light of HRT's risks—such as coronary heart disease, stroke and blood clots.

Soy, and other vegetables and fruits, contain phytoestrogens—plant compounds

A Taiwanese study published in the Archives of Internal Medicine reported that men and women who were longtime tea drinkers had increased bone density



Brush Your Teeth With Poison?

WARNING:

Keep out of reach of children under 6 years of age. If you accidentally swallow more than used for brushing, seek professional help or contact a poison control center immediately.

I Don't Think So.

Is this warning label on your toothpaste box? There is a safe and effective alternative. A toxin- and fluoride-free toothpaste for your dental health.

The only choice for today's discerning consumer.

Call now for your
FREE sample!



1-800-998-7298

*Your Mouth. Your Health.
Your Choice.*

▲ For more, turn to page 93 and circle #18.



"The earlier in life you begin incorporating soy the better"

that may mimic estrogen hormones in animals. "The more women eat a plant-based diet, the more likely they will have less trouble at menopause," Weil says. "That does not mean a vegetarian diet but a diet that emphasizes fruits and vegetables and is low in animal fats."

MIND OVER MUNCHIES—CHANGING YOUR WAYS

You've digested all of this foodwise information—so, now what? Do you start downing bottles of wine, eating tons of chocolate and topping everything with nuts? The challenge ahead is sensibly changing your eating habits and making them stick. Keep in mind that you have high-energy cycles and low-energy cycles throughout the day, says Thayer. Your energy is up in the morning, low in late afternoon and lowest before bed. "When you are aware that these periods occur, you need to grit your teeth and not give in," he says. He also advises taking a short, brisk daily walk. It will temporarily raise your energy, and with increased energy you can resist food urges.

HEALTHY EATING AND STAYING ON TRACK

- 1) Start out slowly by tweaking your regular menu. Eat a soy burger instead of meat; use soy milk in a smoothie or bake with soy flour.
- 2) Make a deal with yourself: Try one new plant-based food a week.
- 3) Eat a wide variety of plant-based foods so that you won't get tired of the same thing.
- 4) Don't add nuts to your diet; substitute them for other foods like red meats.
- 5) Stick to small portions of nuts. You don't want to consume too much fat.
- 6) Try stir-frying vegetables and brown rice.
- 7) If you don't like plain steamed vegetables, use a sauce or mix them with olive oil and garlic after steaming.
- 8) Try to make one or two meals at home weekly.
- 9) Learn to prepare easy dishes. Healthy food can be delicious but need not be burdensome to prepare.
- 10) Make gradual changes; you are less likely to stick with radical change.
- 11) Give yourself pep talks; persuade yourself to make healthy choices.

Lucky clover

Easing hot flashes can come naturally

Women are turning more and more to phytoestrogens to allay symptoms of menopause and osteoporosis. Phytoestrogens come in many forms; the most potent are compounds called isoflavones, which are found in legumes such as soy and red clover. Clover, for one, contains a variety of isoflavones, including genistein, daidzein, formononetin and biochanin. It also contains flavonoid compounds called coumestans, which some studies suggest have six times more estrogenlike activity than most isoflavones.



- 12)** Seek social support.
13) If you want to change your habits, associate more with people who have the kind of habits you want. Spend more time with people who eat healthfully.

Julie Weingarden-Dubin is based in Huntington Woods, Michigan. Her work can be seen in Newsweek, Marie Claire and Reader's Digest. She is the author of How to Plan an Elegant Second Wedding.

LEARN MORE ABOUT IT:

The Healthy Kitchen Andrew Weil, M.D. (Knopf, 2002)

Eat More, Weigh Less Dean Ornish, M.D. (Quill, 2000)

Calm Energy: How People Regulate Mood With Food and Exercise Robert Thayer, Ph.D. (Oxford, 2001)

Human Nutrition Research Center on Aging, Tufts University: hnrc.tufts.edu

Clinical Nutrition Research Center, Harvard University: hedwig.mgh.harvard.edu/cnrc

National Institutes of Health: dietary-supplements.info.nih.gov

Jawbreakers

A healthy smile that fights disease

What's in your toothpaste? Sadly, mass-market products can contain chemicals that may be harmful to health. Sodium lauryl, sorbitol, alcohol and fluoride can have ill effects—such as skin irritation and canker sores. There are, however, natural components that can give you a healthy smile and even whiter teeth. Coenzyme Q10, for example, is used in natural products because a deficiency can result in diseased gums. And aloe vera is a healing plant used to treat irritated skin. Likewise, perilla-seed extract reduces bacteria and plaque formation that can result in gingivitis and periodontitis.

JASON CoQ10 Gel Toothpastes have combined great taste and periodontal protection, naturally. These whitening gels aid in strengthening gums and promoting good oral health.



Oral Comfort™ helps reduce sensitivity to cold, heat, acids and sweets in less than two weeks.



Exclusively at Health/Natural Food Stores & Vitamin Centers

FOR YOUR FREE SAMPLES CALL TOLL FREE

1-877-JASON-01

Web Site: www.jason-natural.com E-Mail: jnp@jason-natural.com

▲ For info: Turn to page 93 and circle #15.

Texto de chegada 3

Dos arandos às cebolas, a alimentação combate doenças do coração, cérebro e corpo.

Na verdade, pode-nos curar

RAIO X À ALIMENTAÇÃO

Há mistérios em torno do pão nosso de cada dia – mais do que nos é dado a saber. De facto pode ser a chave da nossa longevidade emocional, mental e física.

A comida é gloriosa. Alimenta-nos de todas as formas – não apenas física mas também emocionalmente. Faça uma visita à Food Network . A comida provoca emoções de todos os tipos: o excitante “bam” do Emeril, Nigella morde com paixão. O Naked Chef. E os mistérios de quando o ocidente encontra o oriente de Ming.

Mas a comida é mais do que prazer e sustento. Pode realmente curar-nos. Os nutrientes combatem doenças do coração, ajudam a o cancro e até mantêm o cérebro ativo.

“A comida, além de nutrição básica, traz benefícios para a saúde”, diz Cheryl Toner, M.S, R.D., diretora de comunicações para a saúde na Food and Information Council Foundation (IFIC). Sabemos que os frutos e vegetais têm vitaminas e

que alimentos não processados são melhores, mas que fazem por nós na realidade os cereais integrais , os frutos e os vegetais? Os especialistas acreditam que os alimentos que comemos são uma fonte de força que ajuda os nossos corpos a resistir a doenças bem como a prolongar as funções cognitivas e a melhorar o humor.

Lembram-se quando comíamos bagas por causa da vitamina C? Hoje em dia, há estudos que sugerem que as bagas também contêm antioxidantes que combatem a deterioração das células. Na verdade, a crescente popularidade da medicina alternativa está a colocar um enfoque especial na alimentação, levando as pessoas a procurar respostas fora da medicina tradicional sobre como curar e evitar doenças. Boa alimentação,

acompanhada de exercício, podem ser os ingredientes chave para uma mente sã em corpo são. Ao controlar a saúde melhorará também a sua disposição.

De acordo com a IFIC, a maioria dos americanos crê que exerce controlo moderado sobre a sua saúde e que a nutrição desempenha um papel ainda mais significativo do que o exercício e o historial familiar. “Usar os alimentos para tratamento e prevenção de doenças constitui uma área em expansão” diz Andrew Weil, M.D., diretor de medicina integrativa na Universidade do Arizona, em Tucson. “Qualquer revista de médica demonstra como os grupos de alimentos ou os componentes alimentares afetam a saúde”.

O que se tem dito, sobre os poderes mágicos dos alimentos estará provavelmente

relacionado com os seus antioxidantes. Estes neutralizam os agentes que deterioram as células e possivelmente reduz o risco de doenças. Os antioxidantes surgem naturalmente em vários tipos de alimentos, tais como frutos, vegetais, frutos secos, óleo de peixe, chá e muitos outros.

Mesmo assim, “uma propaganda excessiva”, diz Walter Willett, M.D, Dr.P.H, presidente do departamento de nutrição da Escola de saúde pública de Harvard. Os antioxidantes não são uma panaceia. “Contudo, estamos a aprender que os alimentos têm funções muito mais importantes do que tínhamos reconhecido anteriormente. Por exemplo, que as gorduras poli-insaturadas fazem muito mais do que baixar os níveis de colesterol. Elas podem ajudar a evitar coágulos no sangue e diminuir as probabilidades de desenvolver ritmos cardíacos fatais”. O papel essencial dos ácidos

gordos é outra vasta área de pesquisa. Segundo Weil, “Eles melhoram a função mental e protegem das doenças do coração e das inflamações. A dieta americana média é seriamente deficiente em ácidos gordos ômega-3 e isso traz consequências para a saúde”. O peixe, algumas sementes e nozes são boas fontes de ômega-3.

Recomendam-se também para uma dieta ótima os alimentos com base em plantas, como os vegetais, os frutos, a soja e os cereais integrais. Estes contêm fitoquímicos, agentes naturais que ajudam a fortalecer o sistema imunitário e a proteger contra a doença.

Encontram-se fitoquímicos em alimentos tais como, o alho, legumes e frutos secos, entre outros. “Frutos e vegetais não contêm substâncias que promovem doenças; eles contêm milhares de substâncias protetoras”, diz o autor Dean Ornish, M.D., presidente e diretor

do instituto de pesquisa de medicina preventiva, sem fins lucrativos, em Sausalito, California. “O importante não é só o que exclui da sua dieta, mas sim o que inclui”.

Aprender sobre os alimentos é apenas uma parte do objetivo. Para viver uma vida mais saudável, pode ter de mudar as suas rotinas. Pode ter de comprar, preparar e ingerir os alimentos de forma diferente. Trocar batatas fritas por vegetais não é fácil, então como encontrar motivação para isso?

Outra coisa é certa, usar o medo da morte para motivar as pessoas não funciona, diz Ornish. Contudo, “quando começamos a modificar a nossa dieta e estilo de vida, começamos a sentir-nos melhor. Temos mais energia pensamos com mais clareza, o cérebro recebe mais sangue, não precisamos de dormir tanto e temos mais resistência ”.

Acredita-se que as proteínas de soja reduzem o risco de doenças cardíacas pela diminuição de colesterol

Surge continuamente nova informação; o que pode tornar tudo um bocado confuso. Para decidir o que faz sentido para nós, temos de ler, consultar um médico ou nutricionista e explorar novos alimentos. “tente fazer mudanças mesmo que só durem uma semana. Irá aprender por experiência própria como se sentir melhor. É uma forma muito mais orgânica de mudar”, diz Ornish. E como é notado por Willet, “As decisões sobre alimentação não devem ser tomadas como base em apenas um estudo; é importante que haja confirmação de várias fontes fidedignas”. É por isso que PT coligiu algumas das descobertas

mais recentes. Eis vários estudos que mostram os benefícios da ginkobiloba ao ômega 3.

CORAÇÃO

Para proteger o coração devemos saber que precisamos de praticar exercício e seguir uma dieta baixa em gorduras saturadas. Mas estudos recentes mostram efeitos benéficos de alimentos que podemos ter em conta. Por exemplo, crê-se que a soja reduz o risco de doenças cardíacas, contribuindo para a diminuição do colesterol. Vários especialistas recomendam a ingestão de 25 gramas de proteína de soja por dia. Um estudo publicado recentemente na

Diabetes Care mostra que a soja pode reduzir o risco de ataques cardíacos e enfartes em mulheres pós-menopausa porque contém isoflavonas antioxidantes. Podemos adquirir soja de várias formas: edamame (soja em vagem), tofu e frutos secos de soja, por exemplo.

Os frutos secos têm também efeitos saudáveis para o coração, apesar de já terem sido temidos pelo seu elevado conteúdo em gordura. Mas estudo médico das Enfermeiras de Harvard descobriu que as mulheres que comeram 30 gramas de frutos secos pelo menos cinco vezes por semana durante 14 anos diminuíram o seu risco de doença cardíaca em cerca de 30%.

Os frutos secos têm gorduras monoinsaturadas e poliinsaturadas, e de acordo com a IFIC, os indivíduos com dietas ricas nesses dois tipos de gordura apresentam diminuição do mau colesterol. Gorduras

Diga tomate

A defesa natural dos antioxidantes

Fresco numa fatia de tosta ou estufado num molho, o tomate bem pode ser considerado uma das criações naturais mais perfeitas. Mas há mais neste fruto do que apenas o seu sabor gostoso. O tomate é rico em licopeno – um antioxidante que beneficia várias áreas da saúde. Por exemplo, investigadores de Harvard descobriram que o tomate reduz o risco de uma série de cancros, tais como, da próstata, da mama e dos ovários. E noutra pesquisa demonstrou-se que o tomate diminui a sanguínea tensão arterial em pacientes hipertensos – um bom sinal de melhoria na saúde cardiovascular.

“As pessoas auto regulam o seu humor com a comida, normalmente com alimentos doces e gordos. Eles fazem-nas sentir imediatamente melhores, mas infelizmente este efeito é de curta duração.”

saturadas, por outro lado, aumentam o colesterol “mau” de baixa densidade lipoproteica (LDL). Outros alimentos ricos em gorduras saudáveis são os abacates, azeite de soja e azeite de oliveira.

Os ácidos gordos omega 3 são igualmente uma fonte importantes de gordura e são encontrados em abundância em peixes gordos, tais como, salmão e cavala, e em menor quantidade em outras formas de pescado. Estes ácidos gordos ajudam a manter e reparar as células cerebrais, que são compostas de gordura. Também reduzem o risco de doenças crónicas tais como doenças coronárias, enfarte e cancro. Um estudo publicado no *American Journal of Clinical Nutrition* descobriu que a morte súbita cardíaca ocorre com menos frequência em pessoas que comem peixe de água salgada.

Quando se listam os ingredientes saudáveis para o coração, não se deve esquecer o vinho e a cerveja. Todos sabemos que o consumo moderado de álcool pode ajudar na

prevenção de doenças cardíacas, mas a investigação mais recente indica que a frequência com que se bebe é mais importante do que a quantidade ou o que se bebe. Um estudo recente da *Beth Israel Deaconess Medical Center* em Boston relatou que as pessoas que bebem álcool pelo menos três vezes por semana são menos propensas a desenvolver doenças cardíacas do que quem não bebe com frequência – independentemente do que preferem: cerveja, vinho ou bebidas brancas.

Noutro relatório

publicado no *European Journal of Clinical Nutrition*, investigadores holandeses estudaram o acompanhamento do jantar com cerveja. No estudo de adultos de meia-idade, observou-se a diminuição dos níveis da proteína C-reativa, um componente associado a inflamações e coágulos no sangue.

Na verdade, o vinho, a soja, os frutos secos e o peixe são bem conhecidos pelos seus benefícios para a saúde do coração. Mas aqui há pontos adicionais surpreendentes: o mel e o chocolate, este quanto mais negro melhor.

NAS ARTICULAÇÕES

Privilegie um equilíbrio correto das proteínas

Para articulações saudáveis, são necessárias proteínas na sua dieta diária. Contudo a média americana é muito elevada em termos de carne vermelha, uma proteína rica em gordura saturada. Uma mudança simples que poderá fazer é substituir carne por peixe. O peixe é relativamente pobre em gordura saturada e contém ácidos gordos polinsaturados ou ômega 3. Demonstrou-se que estes ácidos gordos essenciais ajudam a reduzir inflamações nas articulações. Outra fonte alternativa de proteína para a saúde das articulações é a soja e legumes tais como lentilhas e feijão preto.

"Os fitoquímicos do chocolate desenvolvem as mesmas reacções do que alguns anti-depressivos."

Aparentemente, o mel tem os mesmos efeitos antioxidantes e, anti placa arterial que encontramos em alimentos como espinafres e maçãs. Na Universidade de Illinois em *Urbana-Champaign*,

o corpo a resistir à deterioração das células por radicais livres. E o doce pode diminuir o risco de enfarte e doença cardíaca.

MEMÓRIA

E TUDO O FUMO LEVOU

Novas maneiras de perder o hábito da nicotina

Deixar de fumar não é fácil: 70 por cento dos fumadores fizeram pelo menos uma tentativa falhada. Adesivos, pastilhas e inaladores nasais disponibilizam nicotina sem o cigarro. Portanto muitos fumadores apenas trocam cigarros por pastilhas. Agora há maneiras mais naturais de lutar contra o vício da nicotina. O exercício, por exemplo, distrai-nos e aumenta a serotonina que melhora o humor; o mesmo acontece com o reforço natural da erva de S. João e a valeriana. Também estão disponíveis outras alternativas, tais como pastilha elástica homeopática sem nicotina.

um estudo de cinco semanas sobre homens e mulheres com idades compreendidas entre os 18 e os 68 anos demonstrou que os níveis de antioxidantes no sangue aumentaram após ingestão de água com mel.

O chocolate também ajuda o coração. Os seus flavonoides, uma família de antioxidantes, ajudam

Exercitar o cérebro com palavras cruzadas pode ajudar a manter a sua capacidade de pensar em ordem, mas há estudos que mostram que o que se come também ajuda. Os antioxidantes nos arandos, por exemplo, podem ter efeitos antienvhecimento. De acordo com o *Human Nutrition Research Center on Aging* na Universidade de Tufts, os arandos

ajudam a proteger o cérebro de danos neurológicos.

Certos alimentos podem também evitar outros problemas do foro cognitivo. O ácido linoleico é nutricionalmente essencial. Pode ser encontrado em óleos como o de semente de açafrão e girassol e, de acordo com um estudo do Loyola University Medical Centre pode ajudar a controlar a hipertensão e assim a evitar o enfarte, a terceira maior causa de morte.

Igualmente importante é o que se bebe. De acordo com um estudo recente publicado na *Neurology*, As pessoas que bebem vinho moderadamente têm um menor risco de desenvolver demência incluindo a doença de Alzheimer. O vinho tinto é especialmente favorável por causa do seu elevado nível de flavonoides. Por outro lado, o estudo também descobriu que a ingestão ocasional de cerveja está associada ao

Um estudo tailandês publicado nos *Archives of Internal Medicine* relatou que homens e mulheres, bebedores de chá de longa data tinham maior a densidade óssea.

aumento do risco de demência.

E os antioxidantes, claro, são importantes na manutenção das capacidades cognitivas. Estes agentes de combate a doenças surgiram novamente em dois estudos recentes publicados pelo *Journal of the American Medical Association*.

Os investigadores descobriram que dietas ricas em antioxidantes – especialmente vitamina E – podem ajudar a proteger contra a doença de Alzheimer.

CANCRO

Não esqueçamos os frutos e vegetais. As crucíferas, tais como os brócolos e agrião contêm fitoquímicos chamados isothiocyanates que ajudam o nosso corpo a destruir potenciais substâncias cancerígenas. Couve chinesa, couves de Bruxelas, couve-flor, couve penca, mostarda castanha - há um sem número de crucíferas que nos darão o que precisamos.

Uma dieta rica em vegetais do grupo das aliáceas tais como alho, chalotas e cebolas,

reduzem o risco do cancro da próstata, segundo um estudo do Instituto Nacional do Cancro. O cebolinho oferece a maior proteção mas se preferir o alho, os estudos sugerem que um dente por dia será suficiente.

De forma semelhante, os frutos também têm estes poderes protetores. O tomate, por exemplo, contém licopeno que protege as células contra os carcinogénios. Ou, se preferir, uma dose diária de bagas também protege contra o cancro.

Vários estudos descobriram os benefícios das bagas para a saúde. Investigadores da Universidade do estado de Ohio descobriram que as bagas param o desenvolvimento de tumores em ratos.

Considera-se que a amora preta é a mais poderosa porque contém componentes tais como antocianinas – que se acredita protegerem contra doenças cardíacas através da diminuição do colesterol LDL. As bagas são também ricas em fenóis tais como ácido elágico, um antioxidante que protege as células do corpo.

DISPOSIÇÃO

"As pessoas autorregulam continuamente o seu humor com a comida, normalmente com alimentos doces e gordos", diz Robert Thayer, Ph.D. Professor de Psicologia na Universidade do Estado da Califórnia, Long Beach. "Isso fá-las sentir imediatamente melhor, mas infelizmente o efeito

Trevo da sorte

Facilitar as grandes mudanças vem naturalmente

As mulheres estão a virar-se cada vez mais para os fitoesteróis, para diminuir sintomas da menopausa e da osteoporose. Os fitoesterógenos surgem em várias formas; os mais potentes são os componentes chamados isoflavonoides, que se encontram em legumes tais como soja e trevo dos prados. O trevo, só por si, contém uma variedade de isoflavonoides, incluindo genisteína, daidzeína, formononetina e biochanina. Também contém componentes flavonoides chamados coumestans, que parecem ter seis vezes mais atividade estrogénica do que a maioria dos isoflavonoides, de acordo com alguns estudos.

é de curta duração”.

Felizmente há alimentos saudáveis que nos podem animar. Investigação recente, publicada na *Brains Behaviour, e Immunity*, relata que há uma correlação entre o aminoácido triptofano e as mudanças de humor. Os investigadores diminuíram os níveis de tryptophan em 27 voluntários – 16 dos quais tiveram uma reação depressiva imediata. Os autores dos estudos descobriram que a depressão ocorreu em metade dos sujeitos com antecedentes depressivos no histórico familiar, mas em apenas 9 por cento daqueles sem qualquer antecedente. Alimentos tais como peru, leite e banana contêm triptofano.

Pesquisas adicionais mostram que o chocolate beneficia o humor. Os fitoquímicos no chocolate desencadeiam a mesma reação que alguns antidepressivos, de acordo com um estudo recente do *American Journal of Psychiatry*. Os autores do estudo descobriram que o chocolate liberta endorfinas, proteínas com propriedades analgésicas que surgem naturalmente

no cérebro. Mas não exagere com uma caixa de chocolates; um pedacinho apenas já dará um bom impulso.

“Não estamos de modo nenhum atualizados quanto ao que a ciência tem a dizer sobre os benefícios de certos alimentos, particularmente no que diz respeito ao humor”, diz Thayer. “Tente um padrão alimentar, observe-se e veja se funciona consigo”.

OSTEOPOROSE/MENOPA USA

O leite não é a única coisa que previne a deterioração dos ossos. O chá contém fluor e flavonoides que incluem derivados de plantas como estrogénio – ambos

podem melhorar a força óssea. Um estudo tailandês publicado no *Archives of Internal Medicine* aplicou um inquérito a 1.037 homens e mulheres que bebiam chá há muito tempo. Encontrou-se maior densidade óssea em pessoas que tinham bebido em média duas canecas de chá preto, verde ou oolong por dia durante seis anos pelo menos.

Há muitos alimentos que ajudam a manter uma estrutura forte, incluindo couve portuguesa, brócolos, sementes de sésamo, sardinhas, e, sim, soja. Mulheres na pós-menopausa com elevadas concentrações de soja na sua dieta têm uma saúde óssea mais forte, de

QUEBRA DENTES

Um sorriso saudável combate doenças

O que há na sua pasta dos dentes? Infelizmente, a maioria dos produtos no mercado CONTÊM químicos que podem prejudicar a saúde. Sódio lauryl, sorbitol, álcool e fluor podem ter efeitos prejudiciais – tais como, irritação da pele e AFTAS. Há, contudo, componentes naturais que podem dar-lhe um sorriso saudável e dentes ainda mais brancos. A coenzima Q10, por exemplo, é usada em produtos naturais porque a sua falta pode resultar em gengivas doentes. E a aloé vera é uma planta curativa usada no tratamento da pele irritada. Da mesma forma, o extrato da semente de perilla reduz as bactérias e a formação de placa que pode resultar em gengivite e periodontites.

acordo com um estudo da Universidade de Illinois em Urbana- Champaign. "Inclusões regulares de soja na dieta protege os ossos", diz Weil. "Mas é importante que as mulheres jovens saibam que não se pode reverter a osteoporose simplesmente aumentando o consumo de cálcio na menopausa".

A soja também é importante para reduzir os sintomas pós menopausa . Um estudo australiano sobre 58 mulheres descobriu uma redução de 40 por cento dos afrontamentos entre aquelas que consumiram 45 gramas de farinha de soja por dia durante um período de 12 semanas. Não é uma má alternativa à terapia de substituição de hormonas (HRT), especialmente à luz do risco associado às HRT – tais como doença coronária de coração, enfarte e coágulos de sangue.

A soja, e outros vegetais e frutos contêm fitoestrogénios – componentes de plantas que imitam as hormonas de estrogénio animal. "Quanto mais mulheres fizerem uma dieta baseada em plantas, maior probabilidade terão

de diminuir os problemas na menopausa", diz Weil. "Isso não significa uma dieta vegetariana mas uma dieta que dê ênfase aos frutos e vegetais e que seja pobre em gordura animal".

MENTE SOBRE ESTOMAGO – MUDAR OS HÁBITOS

Digeriu toda esta informação sobre alimentação – e agora? Vai começar a esvaziar garrafas de vinho, comer toneladas de chocolate e completar tudo com frutos secos? O desafio que se segue é mudar sensivelmente os seus hábitos alimentares e tornar essa mudança permanente. Devemos ter presente que temos ciclos de energia elevados e baixos ao longo do dia, diz Thayer. A energia está em alta de manhã, baixa ao fim da tarde e ainda mais baixa antes de ir para a cama. "Quando está a par da ocorrência destes períodos, tem de ter força de vontade e não ceder ". Thayer também aconselha a fazer uma caminhada diária, curta e acelerada. Ela aumenta temporariamente a energia e com este aumento será possível resistir à ansia por comida.

COMER SAUDÁVELMENTE E MANTER-SE NA ROTA

Comece lentamente a alterar o seu menu regular. Coma hamburgers de soja em vez de carne; faça batidos com leite de soja ou bolos com farinha de soja. Faça um acordo consigo próprio: experimente um novo alimento vegetal por semana.

1. Coma uma grande variedade de alimentos vegetais para que não se canse de nenhum.
2. Não adicione frutos secos à sua refeição; use-os como substituto de outros alimentos como carnes vermelhas.
3. Mantenha pequenas as doses de frutos secos. Não querará consumir demasiada gordura.
4. Experimente legumes salteados e arroz integral.
5. Se não gosta de vegetais cozidos simples, use um molho ou misture-os com azeite e alho depois de cozidos.

6. Tente fazer uma ou duas refeições em casa semanalmente.
7. Aprenda a preparar pratos simples. A comida saudável pode ser deliciosa mas não precisa ser de preparo complicado.
8. Mude gradualmente; é menos provável que desista assim do que se houver uma mudança radical.
9. Incite-se a si mesmo; convença-se a fazer escolhas saudáveis.
10. Procure apoio social.
11. Se quer mudar os seus hábitos junte-se a pessoas que tenham os hábitos que deseja para si. Passe mais tempo com pessoas que comam saudavelmente.

Nuts and Berries for Heart Health

Emilio Ros · Linda C. Tapsell · Joan Sabaté

Published online: 7 September 2010
© Springer Science+Business Media, LLC 2010

Abstract Nuts are nutrient-dense foods with complex matrices rich in unsaturated fatty acids and other bioactive compounds, such as L-arginine, fiber, minerals, tocopherols, phytosterols, and polyphenols. By virtue of their unique composition, nuts are likely to beneficially impact heart health. Epidemiologic studies have associated nut consumption with a reduced incidence of coronary heart disease in both genders and diabetes in women. Limited evidence also suggests beneficial effects on hypertension and inflammation. Interventional studies consistently show that nut intake has a cholesterol-lowering effect and there is emerging evidence of beneficial effects on oxidative stress, inflammation, and vascular reactivity. Blood pressure, visceral adiposity, and glycemic control also appear to be positively influenced by frequent nut consumption without evidence of undue weight

gain. Berries are another plant food rich in bioactive phytochemicals, particularly flavonoids, for which there is increasing evidence of benefits on cardiometabolic risk that are linked to their potent antioxidant power.

Keywords Tree nuts · Peanuts · Berries · Fatty acids · Phytochemicals · Antioxidants · Flavonoids · Healthy diets · Epidemiologic studies · Clinical trials · Coronary heart disease · Stroke · Obesity · Metabolic syndrome · Visceral adiposity · Type 2 diabetes · Weight gain · Hypertension · Blood cholesterol · Triglycerides · Glycemic control · Insulin · Oxidation · Inflammation · Flow-mediated dilatation

Introduction

Extensive research has been carried out on nuts and health outcomes since the 1992 publication of a landmark report from the prospective Adventist Health Study showing an association of nut consumption with a lower risk of coronary heart disease (CHD) [1]. This was soon followed by publication of a seminal clinical trial demonstrating that a diet enriched with walnuts reduced serum cholesterol levels compared with a standard healthy diet [2]. The interested reader will find updated information regarding nutrient contents, consumption patterns, and epidemiologic and clinical research on nuts and health outcomes in a 2006 monograph [3] and in a supplement collecting the proceedings of the 2007 Second International Nuts and Health Symposium [4].

The most popular edible tree nuts are almonds, hazelnuts, walnuts, pistachios, macadamias, and cashews. The consumer definition also includes peanuts, which botanically are legumes but have a nutrient profile similar to tree nuts. Nuts

E. Ros (✉)
Lipid Clinic, Endocrinology and Nutrition Service,
Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer,
Hospital Clínic,
08036 Barcelona, Spain
e-mail: eros@clinic.ub.es

E. Ros
Ciber Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN),
Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Spain

L. C. Tapsell
Illawarra Health and Medical Research Institute
and Smart Foods Centre, University of Wollongong,
Wollongong, NSW 2522, Australia
e-mail: ltapsell@uow.edu.au

J. Sabaté
Department of Nutrition, School of Public Health,
Loma Linda University,
Loma Linda, CA 92350, USA
e-mail: jsabate@llu.edu

are energy-dense foods that are particularly rich in fat, mostly unsaturated fatty acids (Table 1); they also contain substantial amounts of fiber, folate, minerals, and antioxidants (both tocopherols and polyphenols) [3, 4]. These particular plant foods have been a marginal source of energy in Western diets, except for vegetarians and other health-conscious groups. However, nut consumption has increased in recent times following both the inclusion of this food group in guidelines for healthy eating and wide media coverage of recent evidence relating nut intake to a wide range of health benefits. Because of the link of nut consumption with a reduced risk of both CHD and intermediate biomarkers, such as blood cholesterol, the US Food and Drug Administration issued a health claim for nuts in the summer of 2003 [5]. Since then, nuts have become an indispensable component of heart-healthy diets, as reviewed in this journal as recently as 2007 [6].

Berries are a group of fruits that are not particularly consumed by most Western populations in spite of their health benefits, as documented in emerging research [7•]. In contrast to nuts, berries are low in calories, devoid of fat, and high in moisture. They also contain many bioactive substances, such as fiber, vitamin C, folate, and minerals, and are particularly rich in polyphenols, particularly flavonoids (anthocyanins and procyanidins) [8]. Anthocyanins comprise the largest group of natural, water-soluble plant pigments and impart the bright colors to berry fruits and to flowers. Besides specific associations between consumption of berries or berry flavonoids and cardiovascular outcomes in prospective studies, clinical trials have shown the potential of consuming berries to improve intermediate markers of heart disease in relation to their support for antioxidant mechanisms [7•, 8].

In this review, we summarize recent knowledge on the expanding area of nuts and berries and heart health. Effects of consumption of these special foods on related outcomes, such as obesity and diabetes, and other health aspects will also be addressed.

Nuts and Risk for Cardiovascular Disease

Prospective epidemiologic studies conducted over the past two decades in the United States (US) and across Europe have consistently shown an association between the increased frequency of nut intake and reduced risk of CHD [9]. Nut consumption continues to be the focus of intense research within prospective studies exploring specific clinical cardiovascular end points (i.e., fatal CHD, type 2 diabetes, stroke, heart failure, and hypertension) and in controlled feeding studies exploring intermediate biomarkers of cardiovascular disease risk.

Prospective Studies with Clinical Endpoints

A summary of the data from the Adventist Health Study, Iowa Women's Health Study, Nurses' Health Study (NHS), and Physician's Health Study (PHS) was conducted using the median of each nut consumption category associated with the relative risk of fatal CHD [10]. A distinct dose-response gradient existed in each study and an 8.3% reduction in risk of CHD death was estimated for each weekly serving of nuts. A recent pooled analysis of these 4 US cohort studies showed a relative risk (RR) of 0.65 (95% CI, 0.47–0.89) for CHD mortality between participants who ate nuts at least twice per week compared with those who never or rarely consumed nuts [11•].

Table 1 Energy and fat content and average fatty acid and sterol composition of nuts per 28-g serving

Nuts ^a	Energy, kcal	Fat, g (% En)	SFA, g	MUFA, g	PUFA, g	LA, g	ALA, g	PS, mg
Almonds	162	14.2 (78.9)	1.1	9.0	3.4	3.4	0.0	33.6
Brazil nuts (dried)	183	18.6 (91.5)	4.2	6.9	5.8	5.7	0.0	NR
Cashews	154	13.0 (76.0)	2.6	7.6	2.2	2.2	0.0	44.2
Hazelnuts	176	17.0 (86.9)	1.3	12.8	2.2	2.2	0.0	26.9
Macadamia nuts	201	21.2 (94.9)	3.4	16.5	0.4	0.4	0.1	32.5
Peanuts	149	13.8 (83.4)	1.9	6.8	4.4	4.4	0.0	61.6
Pecans	193	20.2 (94.2)	1.7	11.4	6.0	5.8	0.3	28.6
Pine nuts (dried)	188	19.2 (91.9)	1.4	5.3	9.5	9.3	0.0	39.5
Pistachios	156	12.4 (71.5)	1.5	6.5	3.8	3.7	0.1	59.9
Walnuts	183	18.3 (90.0)	1.7	2.5	13.2	10.7	2.5	20.2

^a Data are for raw nuts, except when specified

ALA α -linolenic acid; En energy; LA linoleic acid; MUFA monounsaturated fatty acids; PS plant sterols; PUFA polyunsaturated fatty acids; SFA saturated fatty acids.

Data from US Department of Agriculture [60]

Although previous findings from the NHS suggested that nut and peanut butter consumption was associated with a reduced incidence of type 2 diabetes in women [12], no association between nut consumption and type 2 diabetes was found in male participants in the PHS cohort [13]. In light of the heightened risk of cardiovascular disease (CVD) among persons with diabetes, investigators further evaluated the relationship between nut consumption and CVD (including CHD and stroke) among women with type 2 diabetes enrolled in the NHS and found a lower risk of CVD (RR=0.56; 95% CI, 0.36–0.89) [14]. Alternatively, no association between the frequency of nut intake and ischemic stroke [15] and risk of heart failure [16] was found in the PHS cohort, yet a J-shaped relationship was found between nut consumption and hemorrhagic stroke [15]. However, there were a limited number of hemorrhagic strokes in the highest categories of nut consumption, thus further studies are clearly warranted to confirm or discard this improbable adverse effect of nuts.

Prospective Studies of Nut Consumption and Hypertension

Two prospective studies have assessed the frequency of nut consumption in relation to incident hypertension with discordant results [17, 18]. In a cohort of 15,966 participants in the PHS [17] who were free of hypertension at baseline and had 237,585 person-years of follow-up, adjusted hazard ratios for hypertension ranged from 0.97 (95% CI, 0.91–1.03) for nut consumption 1 to 2 times per month to 0.82 (95% CI, 0.71–0.94) for nut consumption of 7 or more times per week. In a secondary analysis stratified by body mass index (BMI), there was an inverse relationship between nut intake and hypertension in lean participants but not in those who were overweight or obese at baseline. These results must be taken with caution, however, because salt intake and changes in weight, two major factors that influence the risk of hypertension, were not accounted for in this study. The second study, which involved 9919 Spanish university graduates followed-up for a median of 4.3 years in the Seguimiento Universidad de Navarra (SUN) cohort [18], found no association between nut consumption and incidence of hypertension after adjusting for several confounders, including exposure to salt and weight changes during follow-up. The hazard ratio for the highest versus lowest nut-consumption category was 0.77 (95% CI, 0.46–1.30) in this relatively young sample of well-educated adults at little baseline risk for hypertension, thus a larger sample and longer duration of follow-up might have provided a better level of evidence. In summary, limited epidemiologic data provide only circumstantial evidence for a protective effect of nut consumption on the development of hypertension.

Nut Consumption and Inflammatory Markers in Epidemiologic Studies

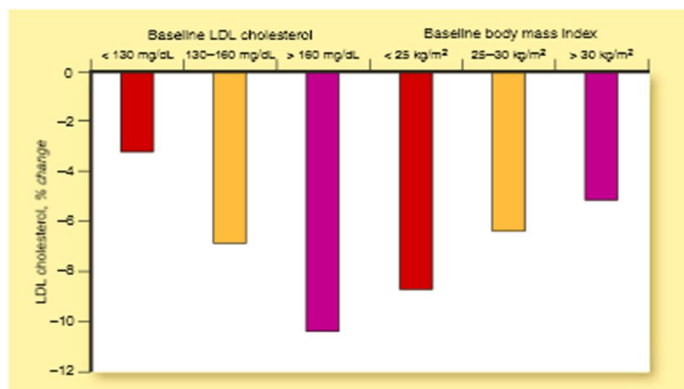
Because inflammation is a key process in atherogenesis, one mechanism by which nut consumption may decrease CHD risk is by improving inflammatory status, which can be estimated from levels of circulating biomarkers. Three cross-sectional studies have investigated nut consumption in relation to circulating inflammatory biomarkers [19–21]. In an analysis of data from nearly 6000 participants in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis, consumption of nuts and seeds was inversely associated with levels of inflammatory markers, C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6), and fibrinogen [19]. Another study of 987 diabetic women from the prospective NHS showed a direct association between nut consumption and increased plasma levels of adiponectin, an adipose tissue-secreted cytokine with anti-inflammatory and anti-atherosclerotic properties [20]. The third study was carried out in 772 older individuals at high risk for CHD living in Spain with the purpose of assessing adherence to the Mediterranean dietary pattern and its food components in relation to levels of soluble inflammatory markers. Adjusted mean serum levels of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), but not those of CRP or IL-6, decreased across increasing tertiles of nut consumption [21].

Nut Feeding Studies with Outcomes on Intermediate Markers

Lipids

The effects of nut consumption on blood lipids and lipoproteins have been investigated in over 40 nut intervention trials to date. A recent pooled analysis of 25 clinical studies conducted in seven countries examining nut-enriched diets versus control diets for outcomes on blood lipids found that nuts had a cholesterol-lowering effect that was dose-related, similar by gender, relevant across all age groups, and independent of the type of nut tested [22•]. Specifically, consumption of 67 g (2.4 oz) of nuts daily produced estimated mean reductions of 10.9 mg/dL (5.1%) in total cholesterol, 10.2 mg/dL (7.4%) in low-density lipoprotein (LDL) cholesterol, and 0.22 mg/dL (8.3%) in LDL to high-density lipoprotein (HDL) ratios ($P<0.001$ for all). Nuts had no significant effect on HDL cholesterol or triglycerides, except in participants with serum triglycerides higher than 150 mg/dL, in whom a significant 10.2-mg/dL reduction was observed. Importantly, participants with high baseline LDL cholesterol levels (>130 mg/dL) and lower BMI (<25 kg/m²) (Fig. 1), as well as those consuming Western diets, experienced more pronounced lipid-lowering effects from nut consumption. Although the cholesterol-

Fig. 1 Low-density lipoprotein (LDL) cholesterol response to nut feeding by baseline LDL cholesterol level and body mass index (BMI). Data from a pooled study of 25 nut-feeding trials in which the mean serving size was 67 g (2.4 oz) of nuts per day (Adapted from Sabaté et al. [22•])



lowering effect is consistent with results from prior individual clinical trials, the observed interaction between nut consumption and BMI was a novel finding.

There may be reasons for decreased lipid responsiveness to nut diets in overweight or obese persons and those with metabolic syndrome (MetS). Studies have shown that the LDL cholesterol response to diets low in saturated fatty acids [23] or to egg feeding as dietary cholesterol challenge [24] are blunted in obese, insulin-resistant individuals compared with lean, insulin-sensitive individuals. It has also been reported that higher BMI is associated with decreased LDL cholesterol responses to hypolipidemic diets [25]. High cholesterol synthesis and reduced intestinal cholesterol absorption in insulin-resistant states [26] might explain these findings, as an enhanced cholesterol flux through the liver will down-regulate LDL receptors and make them refractory to additional regulation by dietary fatty acid changes, whereas a decreased cholesterol flux through enterocytes would lessen both the cholesterol-raising response to dietary cholesterol and the cholesterol-lowering effect of plant sterols. Nuts are rich in plant sterols, which are likely to contribute to their cholesterol-lowering effect [27], but this would be less operative when cholesterol absorption is low. Recently, suggestive evidence has been provided that phytosterols in nuts relate to the LDL cholesterol response observed after their consumption [28]. Of note, two recent randomized trials that tested diets enriched in cashews or walnuts [29] and mixed nuts [30] compared with control diets in obese patients with metabolic syndrome failed to show the predictable cholesterol lowering effect, which supports the findings of the pooled analysis of and inverse association between the blood lipid response to nuts and BMI [22•].

In light of the unique composition of walnuts, the fatty fraction of which is particularly rich in polyunsaturated fatty acids (linoleic and α -linolenic acids) [3], a separate

meta-analysis of 13 clinical studies was conducted by Banel and Hu [31•] to explore the effect of walnut-enriched diets on blood lipid levels. Compared with control diets, diets containing walnuts in amounts varying from 30 to 108 g/d (10–24% of energy) were associated with weighted mean reductions of total cholesterol and LDL cholesterol of 10.3 mg/dL and 9.2 mg/dL ($P < 0.001$ for both), respectively, which concur with the results of the pooled analysis for different nut types [22•]. Recent well-controlled clinical trials using walnut diets against control diets confirm the cholesterol-lowering efficacy of walnuts [32–35]. Because the interventions ranged from 4 to 8 weeks in most studies, Torabian et al. [34] investigated if the short-term lipid effects of walnut consumption (12% of energy) could be maintained and extended to a 6-month period in 87 free-living individuals to whom no dietary advice was given. The inclusion of walnuts as part of the habitual diet reduced total cholesterol by 5 mg/dL ($P = 0.02$) and triglycerides by 8 mg/dL ($P = 0.03$), with a nearly significant decrease of 3.5 mg/dL in LDL cholesterol ($P = 0.06$). Consistent with the results of the pooled analysis [22•], the lipid-lowering effects of walnuts were found to be more pronounced among participants with higher baseline LDL cholesterol. Furthermore, Tapsell et al. [35] tested a walnut diet against a control diet for up to 1 year in obese patients with diabetes and showed maintained, albeit small, LDL cholesterol reductions and HDL cholesterol increases with the walnut diet.

Blood Pressure

No discernible effect of nut feeding on blood pressure has been observed in the usually small-sized clinical studies performed to date with main outcomes on changes of the lipid profile, but the larger Prevencion con Dieta

Mediterranean (PREDIMED) trial did show significant reductions in both systolic and diastolic blood pressure in high-risk participants after 3 months of a Mediterranean diet supplemented with 30 g/d of mixed nuts compared with the control diet, but not with a Mediterranean diet supplemented with virgin olive oil [36]. A recent report from this study provides an insight into the possible mechanism of this antihypertensive effect by showing that both the nut-enriched and olive oil-enriched diets were associated with a reduced cholesterol to phospholipid ratio of erythrocyte membranes, which would translate into increasing membrane fluidity [37]. Adequately powered future studies may uncover a true antihypertensive effect of nut intake.

Emerging Risk Factors for Cardiovascular Disease

By virtue of their unique fat and nonfat composition, nuts are likely to affect markers of atherogenesis other than the lipid profile or carbohydrate metabolism. More recently, the effects of nuts on novel CHD risk factors have been evaluated, including oxidative stress, inflammation, and vascular reactivity [6, 38, 39]. The emerging picture is that frequent nut consumption has beneficial effects on cardiovascular risk factors beyond well-established cholesterol lowering.

Regarding oxidation, nuts are important sources of tocopherols and phenolic compounds with potent antioxidant effects, as shown by reduction of lipid peroxidation or oxidative DNA damage with nut extracts in studies in vitro and the beneficial effects of nut intake on lipid oxidation, antioxidant enzyme activity, and formation of cholesterol oxidation products in both acute and chronic experimental animal studies [38, 40]. Oxidative markers after feeding of monounsaturated fatty acid (MUFA)-rich nuts, predominantly almonds, have been examined in several randomized feeding studies, usually of small size and lasting from 3 to 8 weeks [39]. Biomarkers of oxidation were secondary outcomes in most of these studies, which showed inconsistent results, with either reduced or unchanged oxidation, but in no case was there worse oxidative status compared with various control diets. Several feeding studies of similar characteristics have assessed oxidative biomarkers after consumption of diets supplemented with polyunsaturated fatty acid (PUFA)-rich walnuts versus other healthy diets [38]. In general, there were no between-diet differences in oxidative status. In the higher statistically powered PREDIMED trial, a Mediterranean diet enriched with 30 g of mixed nuts given daily for 3 months to older individuals at high cardiovascular risk resulted in a lower oxidized LDL level compared with a control diet, but not with a virgin olive oil-enriched diet [41]. Available evidence suggests that MUFA-rich nuts may moderately improve oxidative

status, whereas PUFA-rich nuts (walnuts) have a neutral or slightly beneficial effect, but no studies have shown that frequent nut consumption reduces antioxidant defenses.

With respect to inflammation, the high content of phenolic compounds in nuts, particularly in the pellicle (outer skin), might anticipate an anti-inflammatory effect of frequent nut consumption, as suggested in cross-sectional studies [19–21]. Nevertheless, plasma levels of CRP, a standard measure of systemic low-grade inflammation, were usually unaffected in controlled feeding trials (as reviewed up to 2008) with almonds, walnuts, or mixed nuts [38]. It must be noted that inflammatory biomarkers were always secondary outcomes of nut feeding trials; thus, statistical power to detect significant changes is a problem. A further substudy of the PREDIMED trial analyzed both 3-month changes in circulating inflammatory biomarkers and in the expression of ligands for inflammatory molecules in circulating monocytes after the study diets, one of which was supplemented with 30 g/d of mixed nuts [42]. The findings indicate reductions in both circulating inflammatory mediators and, importantly, reduced monocyte expression of pro-inflammatory ligands after both olive oil-enriched and nut-enriched Mediterranean diets compared with the control diet, thus beginning to unravel the molecular bases for the anti-inflammatory effects of nut consumption.

Concerning vascular reactivity, both walnut diets and walnut meals had shown improved flow-mediated dilatation (FMD) in the brachial artery in two earlier studies conducted in healthy and hypercholesterolemic patients [38]. A recent cross-sectional study in diabetic patients compared a walnut diet with an isoenergetic ad libitum diet with similar saturated fatty acid (SFA) content without walnuts, each lasting 8 weeks, and confirmed that walnuts improve FMD [33]. This beneficial effect of walnuts may be ascribed, in part, to their high content of PUFA, antioxidants, and L-arginine, the precursor of nitric oxide, which is an endogenous vasodilator. Although there is a paucity of vascular reactivity studies after consumption of diets enriched with nuts other than walnuts, they might be expected to show similar beneficial effects because all nuts contain substantial quantities of bioactive compounds that can favorably influence vascular reactivity. This is a key area for future research.

Does Nut Consumption Promote Obesity?

Nuts are high-fat, energy-dense foods, which are attributes usually linked to weight gain. However, past epidemiologic studies do not support the concern that nut consumption might promote weight gain [3, 4, 6]. Consistent with prior

epidemiologic findings in the United States, the SUN study (8800 adult men and women) found that participants who consumed nuts frequently (≥ 2 times per wk) had a 40% reduced risk of weight gain (odds ratio of 0.61; 95% CI, 0.47–0.79) during a 28-month follow-up [43]. Notably, SUN was the first epidemiologic study that evaluated the direct effect of nut consumption on body weight in a prospective manner, and has provided evidence that frequent nut consumption is not associated with an increase in body weight, change in body weight, or incidence of overweight or obesity over time. Bes-Rastrollo et al. [44] recently investigated the relationship between nut consumption and long-term weight change after an 8-year follow-up in 51,188 women from the NHS cohort. Using multivariate analysis controlling for lifestyle and other dietary factors, frequent nut consumption (≥ 2 times per week) was associated with a lower risk of obesity (hazard ratio of 0.77; 95% CI, 0.57–1.02; P for trend = 0.003). Furthermore, in a cross-sectional study of a sample of 847 individuals recruited into the PREDIMED study, nut consumption was inversely associated with adiposity measures (BMI and waist circumference) independently of other lifestyle variables. From regression coefficients of nut intake versus adiposity variables, it was predicted that BMI and waist circumference decreased by 0.78 kg/m² and 2.1 cm, respectively, for each daily serving of 30 g of nuts [45].

Several small clinical studies in free-living individuals explored the association between moderate nut consumption and body weight as a main outcome and showed no overall increase in body weight, as reviewed [3, 4, 6]. Recent evidence from the PREDIMED study shows a decreased prevalence of the MetS, mainly due to reduced visceral adiposity, after intervention for 12 months in participants following a Mediterranean diet supplemented with 30 g of nuts per day [46]. Other clinical trials have suggested that almonds and other nuts may favor weight loss within energy-restricted diets, possibly by increasing compliance, but enhanced satiety, increased thermogenesis, and fat malabsorption, documented as increased fecal fat excretion in several nut studies, could also be contributing factors [47].

Effects of Nuts on Glycemic Control

Type 2 diabetes is a condition of metabolic decline with an increased risk of cardiovascular disease. Consuming nuts in an otherwise healthy diet may help to alleviate this condition by providing key nutrients that have an impact on disease processes, such as unsaturated fatty acids and compounds with antioxidant activity. Dietary fat, for example, has been shown to influence insulin action

through mechanisms associated with cell membrane structure and possibly signaling [48].

As discussed, the epidemiologic evidence on nut consumption and diabetes risk is contradictory, with benefits suggested for women [12] but not men [13]. Some interventional studies have examined the effects of nut-enriched diets on glycemic control in diabetic patients and insulin sensitivity in insulin-resistant states. Earlier studies had shown inconsistent effects of nut-enriched diets on fasting or postprandial glucose and hemoglobin A1C in patients with diabetes or in insulin sensitivity in patients with obesity or MetS, as reviewed [3, 4, 6]. Two recent, small 3-month studies, however, found reduced insulin levels in obese Spanish patients with metabolic syndrome given 30 g/d of mixed nuts [30] and in obese Australian patients with diabetes consuming 30 g/d of walnuts [35]. The 3-month report of the larger PREDIMED study [36] also showed that the Mediterranean diet enriched with nuts was associated with improved insulin sensitivity and fasting glucose levels in non-diabetic and diabetic participants, respectively. In a shorter crossover study of 1-month in duration in 27 hyperlipidemic Canadians, an effect was seen with 36 g/d and 73 g/d of almonds in a low-fat background diet and a diet using muffins as control foods [49]. Both almond diets were associated with decreased 24-h urinary C-peptide, an indirect measure of insulin secretion. The consistency of the results in different populations adds strength to the evidence of a beneficial effect of nuts on pathways related to the development of diabetes.

Given a possible contributory effect of unsaturated fats in nuts, these results are consistent with associations described between dietary fats and diabetes risk [50]. Other components in nuts, such as phenolic compounds, may also provide protection by effecting intermediate markers of the disease, such as improved FMD after a walnut diet in obese patients with type 2 diabetes [33]. Indeed, nuts deliver multiple bioactive constituents besides unsaturated fatty acids [27], which may well address a number of processes in the causal pathway to degenerative diseases such as diabetes. Shorter-term studies have shown acute beneficial effects of nut meals. For example, adding almonds to a meal of white bread was found to reduce the meal glycemic index in a dose-dependent manner [51]. Reduced glycemic excursions mean lesser demands on insulin secretion, which is a key factor in the development of diabetes. Another acute study from the same group found less oxidative protein damage when postprandial glucose excursions were ameliorated by almond consumption [52]. Taken together, these studies help form a better understanding of how nut consumption may be beneficial in creating conditions to combat diabetes.

Berries and Heart Health

There is an emerging body of science demonstrating the impact of berry consumption on cardiovascular health. A recent review of clinical studies published in the period 1998 from 2009 found that the constituents of berries, namely polyphenols, vitamins, minerals, and fiber, are linked to improved cardiovascular risk profiles [7•]. This article examined 20 dietary studies using different berries and in different forms, with main effects relating to improvements in serum antioxidant status and reduced oxidized lipid fractions. These effects could be attributed to compounds with antioxidant capacity, in particular vitamin C and anthocyanin flavonoids, which are variably enriched in different berries [8], a reason why different effects could be observed depending on the type of berry consumed [7•]. Beneficial effects on glucose homeostasis, lipid metabolism, and blood pressure were also noted to varying degrees, as would also be expected.

From the studies reviewed, and notwithstanding differences in study design, the relatively consistent findings on oxidative status likely reflect the main protective element deliverable in berries [7•]. For example, in one study of 30 healthy men, increasing daily doses of cranberry juice over three 4-week periods were associated with significant reductions in oxidized LDL concentrations, which were accompanied by decreased levels of circulating cell adhesion molecules [53]. These results contrasted with those of an earlier study involving healthy young women consuming 750 mL/d of cranberry juice that showed no effects on blood antioxidant status or oxidative DNA damage [54], but the differences may have related to the study population, conditions of the test beverage, and outcome measures. Recent randomized clinical studies have related consumption of mixed berries (bilberries, lingonberries, strawberries, and black currants) to increased plasma concentrations of polyphenols and vitamin C, reduced blood pressure, increased HDL cholesterol, and inhibition of platelet function [55] and to reduced alanine aminotransferase levels as a marker of fatty liver-related inflammation in MetS [56]. Acute effects from berry meals are also detectable, as shown by a recent meal test study showing delayed and attenuated glycemic responses resulting from adding berries (black currants, bilberries, cranberries and strawberries) to a sugar load [57].

The value of berry consumption in influencing oxidative status is becoming clearer with a greater understanding of the pathways involved in cardiovascular disease and the role of dietary chemical constituents in modulating related processes [7•, 58]. For example, in vitro and cell culture analyses of the bioactivity of berries traditionally consumed by native North Americans (highbush cranberry, chokeberry, silver buffaloberry, and serviceberry) found an array

of beneficial effects, including improved glucose utilization, modulation of lipid metabolism and energy expenditure, and inhibition of pro-inflammatory gene expression associated with the inflammation seen in type 2 diabetes [59•].

In summary, berries deliver substantial amounts of vitamin C, flavonoids, and other potent chemicals with antioxidant effects and there is an increasing body of evidence that they are beneficial to health. In particular, berries have a positive influence on oxidative status and mechanisms associated with the low-grade systemic inflammation that underpins the progress of diabetes and cardiovascular disease. Long-term studies of dietary patterns that include substantial amounts of berries in an otherwise healthy diet may be required to confirm the contribution of berry consumption to the prevention of diabetes and cardiovascular diseases.

Conclusions

Nuts are energy-dense foods rich in bioactive macronutrients, micronutrients, and phytochemicals. The unique composition of nuts is critical for their effects on heart

Table 2 Effects of nut consumption on cardiovascular diseases and risk factors: summary of scientific evidence

Disease/factor	Effect	Level of evidence
Epidemiologic studies		
Coronary heart disease	Decrease	++
Ischemic stroke	No change	+
Heart failure	No change	+
Hypertension	Decrease	+/-
Diabetes	No change/decrease	+/-
Inflammatory markers	Decrease	+
Body weight	No change/decrease	++
Clinical studies		
Blood lipid profile		
Total cholesterol	Decrease	++
LDL cholesterol	Decrease	++
HDL cholesterol	No change/increase	+
Triglycerides	No change/decrease	+
Insulin sensitivity	No change/increase	+/-
Blood pressure	No change/decrease	+/-
Oxidation	No change/decrease	+/-
Inflammation	No change/decrease	+/-
Vascular reactivity	Increase	+
Body weight	No change	++
Visceral adiposity	Decrease	+

+/-, equivocal evidence; +, limited evidence from a few studies; ++, evidence from several studies; HDL high-density lipoprotein; LDL low-density lipoprotein

health. Indeed, there is consistent evidence from epidemiologic and clinical studies of the beneficial effects of nut consumption on risk of CHD as well as on diabetes in women, and on major and emerging cardiovascular risk factors, as summarized in Table 2. The evidence to date is convincing that including nuts in a healthy dietary pattern will extend its cardioprotective effects. Importantly, beneficial effects take place without undue weight gain, or even with reduced adiposity, and target multiple cardiovascular risk factors and mechanisms, which help explain why nuts reduce the risk for CHD. Understanding the underlying biological mechanisms of the effects of nuts on mediators of CHD, obesity, MetS, and diabetes should help in the design of diets that include nuts to maximally reduce chronic disease risk. Ongoing research such as the large, randomized PREDIMED trial (final results expected in 2012), where one daily serving of mixed nuts within the context of the Mediterranean diet is provided to participants at high cardiovascular risk in one arm of this long-term study [36, 41, 46], might eventually settle the critical issues of whether, in comparison with a healthy control diet without nuts, a healthy diet supplemented with one daily serving of nuts prevents cardiovascular events and development of other prevalent chronic diseases, including diabetes, cancer, and neurodegenerative disorders.

Berries are another example of a whole plant food rich in bioactive phytochemicals, although, contrary to nuts, they are a low-energy food. Research on berries is more recent and less abundant than in the case of nuts, but there is a growing body of evidence demonstrating their potent antioxidant power and ability to beneficially impact on various intermediate pathways of cardiometabolic risk.

Acknowledgements Work supported in part by grants from the Spanish Health Ministry (FIS Thematic Research Networks C03/01 and G03/140) and the California Walnut Commission, Sacramento, CA. CIBERObn is an initiative of ISCIII, Spain.

Disclosure The authors have received research funding from the California Walnut Commission, Sacramento, CA and are non-paid members of its Scientific Advisory Committee.

References

Papers of particular interest, published recently, have been highlighted as:

- Of importance
- Of major importance

1. Fraser GE, Sabaté J, Beeson WL, Strahan TM: A possible protective effect of nut consumption on risk of coronary heart disease. The Adventist Health Study. *Arch Intern Med* 1992, 152:1416–1424.
2. Sabaté J, Fraser GE, Burke K, et al.: Effects of walnuts on serum lipid levels and blood pressure in normal men. *N Engl J Med* 1993, 328:603–607.
3. Sabaté J, Salas-Salvadó J, Ros E, eds: Nuts: nutrition and health outcomes. *Br J Nutr* 2006, 96(Suppl 2):S1–S102.
4. King JC, Reckemmer G, Geiger CJ, eds: Second International Nuts and Health Symposium, 2007. *J Nutr* 2008, 138:1734S–1765S.
5. US Food and Drug Administration: Qualified Health Claims: Letter of Enforcement Discretion — Nuts and Coronary Heart Disease. Rockville, MD: US Food & Drug Administration; 2003:1–4.
6. Nash SD, Nash DT: Nuts as part of a healthy cardiovascular diet. *Curr Atheroscler Rep* 2008, 10:529–535.
7. •• Basu A, Rhone M, Lyons TJ: Berries: emerging impact on cardiovascular health. *Nutr Rev* 2010, 68:168–177. *This is a complete review of epidemiologic studies suggesting a cardiovascular benefit of berry consumption and of berry feeding trials showing improvement of intermediate biomarkers, with discussion of mechanisms.*
8. Määttä-Riihinen KR, Kamal-Eldin A, Mäntä PH, et al.: Distribution and contents of phenolic compounds in eighteen Scandinavian berry species. *J Agric Food Chem* 2004, 52:4477–4486.
9. Sabaté J, Wien M: Nuts, blood lipids and cardiovascular disease. *Asia Pac J Clin Nutr* 2010, 19:131–136.
10. Kelly JH, Sabaté J: Nuts and coronary heart disease: an epidemiological perspective. *Br J Nutr* 2006, 96:S61–S67.
11. • Kris-Etherton PM, Hu FB, Ros E, Sabaté J: The role of tree nuts and peanuts in the prevention of coronary heart disease: multiple potential mechanisms. *J Nutr* 2008, 138:1746S–1751S. *This is an informative review on epidemiologic and clinical studies published up to 2007 relating nut consumption to heart health.*
12. Jiang R, Manson JE, Stampfer MJ, et al.: Nut and peanut butter consumption and risk of type 2 diabetes in women. *JAMA* 2002, 288:2554–2560.
13. Kochhar J, Gaziano JM, Djoussé L: Nut consumption and risk of type II diabetes in the Physicians' Health Study. *Eur J Clin Nutr* 2010, 64:75–79.
14. Li TY, Brennan AM, Wedick NM, et al.: Regular consumption of nuts is associated with a lower risk of cardiovascular disease in women with type 2 diabetes. *J Nutr* 2009, 139:1333–1338.
15. Djoussé L, Gaziano JM, Kase CS, Kurth T: Nut consumption and risk of stroke in US male physicians. *Clin Nutr* 2010 Apr 8 PMID: 20381933.
16. Djoussé L, Rudich T, Gaziano JM: Nut consumption and risk of heart failure in the Physicians' Health Study I. *Am J Clin Nutr* 2008, 88:930–933.
17. Djoussé L, Rudich T, Gaziano JM: Nut consumption and risk of hypertension in US male physicians. *Clin Nutr* 2009, 28:10–14.
18. xMartínez-Lapiscina EH, Pimenta AM, Beunza JJ, et al.: Nut consumption and incidence of hypertension: The SUN prospective cohort. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010, 20:359–365.
19. Jiang R, Jacobs DR Jr, Mayer-Davis E, et al.: Nut and seed consumption and inflammatory markers in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Am J Epidemiol* 2006, 163:222–231.
20. Mantzoros CS, Williams CJ, Manson JA, et al.: Adherence to the Mediterranean dietary pattern is positively associated with plasma adiponectin concentrations in diabetic women. *Am J Clin Nutr* 2006, 84:328–335.
21. Salas-Salvadó J, García-Arellano A, Estruch R, et al., for the PREDIMED Investigators: Components of the Mediterranean-type food pattern and serum inflammatory markers among patients at high risk for cardiovascular disease. *Eur J Clin Nutr* 2008, 62:651–659.

22. • Sabaté J, Oda K, Ros E: Nut consumption and blood lipid levels: a pooled analysis of 25 intervention trials. *Arch Intern Med* 2010, 170:821–827. *This pooled analysis of 583 patients from 25 clinical studies with different nuts confirms their cholesterol-lowering effect and has sufficient statistical power to detect interesting interactions by type of background diet, baseline lipid levels, and BMI.*
23. Lefevre M, Champagne CM, Tulley RT, et al.: Individual variability in cardiovascular disease risk factor responses to low-fat and low-saturated-fat diets in men: body mass index, adiposity, and insulin resistance predict changes in LDL cholesterol. *Am J Clin Nutr* 2005, 82:957–963.
24. Knopp RH, Retzlaff B, Fish B, et al.: Effects of insulin resistance and obesity on lipoproteins and sensitivity to egg feeding. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003, 23:1437–1443.
25. Hannah JS, Jablonski KA, Howard BV: The relationship between weight and response to cholesterol lowering diets in women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997, 21:445–450.
26. Simonsen P, Gylling H, Howard AN, Miettinen TA: Introducing a new component of the metabolic syndrome: low cholesterol absorption. *Am J Clin Nutr* 2000, 72:82–88.
27. Segura R, Javierre C, Lizarraga MA, Ros E: Other relevant components of nuts: phytochemicals, folate and minerals. *Br J Nutr* 2006, 96(Suppl 2):S36–44. [Erratum in *Br J Nutr* 2008, 99:447–448]
28. Escurrel V, Cofán M, Serra M, et al.: Serum sterol responses to increasing plant sterol intake from natural foods in the Mediterranean diet. *Eur J Nutr* 2009, 48:373–382.
29. Mukuddem-Petersen J, Stonehouse W, Jerling JC, et al.: Effects of a high walnut and high cashew nut diet on selected markers of the metabolic syndrome: a controlled feeding trial. *Br J Nutr* 2007, 97:1144–1153.
30. Casas-Agustench P, López-Uriarte P, Bulló M, et al.: Effects of one serving of mixed nuts on serum lipids, insulin resistance and inflammatory markers in patients with the metabolic syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009 Dec 21 PMID: 20031380.
31. • Banel DK, Hu FB: Effects of walnut consumption on blood lipids and other cardiovascular risk factors: a meta-analysis and systematic review. *Am J Clin Nutr* 2009, 90:56–63. *This is a meta-analysis of 13 walnut feeding trials showing a consistent cholesterol-lowering effect of walnut-enriched diets.*
32. Rajaram S, Haddad EH, Mejía A, Sabaté J: Walnuts and fatty fish influence different serum lipid fractions in normal to mildly hyperlipidemic individuals: a randomized controlled study. *Am J Clin Nutr* 2009, 89:1657S–1663S.
33. Ma Y, Njike VY, Miller J, et al.: Effects of walnut consumption on endothelial function in type 2 diabetic subjects: a randomized controlled crossover trial. *Diabetes Care* 2010, 33:227–232.
34. Torabian S, Haddad E, Cordero-MacIntyre Z, et al.: Long-term walnut supplementation without dietary advice induces favorable serum lipid changes in free-living individuals. *Eur J Clin Nutr* 2010, 64:274–279.
35. Tapsell LC, Batterham MJ, Teuss G, et al.: Long-term effects of increased dietary polyunsaturated fat from walnuts on metabolic parameters in type II diabetes. *Eur J Clin Nutr* 2009, 63:1008–1015.
36. Estruch R, Martínez-González MA, Corella D, et al., on behalf of the PREDIMED Study Investigators: Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors. A randomized trial. *Ann Intern Med* 2006, 145:1–11.
37. • Barceló F, Perona JS, Prades J, et al.: Mediterranean-style diet effect on the structural properties of the erythrocyte cell membrane of hypertensive patients: the Prevención con Dieta Mediterránea Study. *Hypertension* 2009, 54:1143–1150. *This report describes changes in membrane lipid composition that could justify a blood pressure-lowering effect of nut and olive oil consumption.*
38. • Ros E: Nuts and novel biomarkers of cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2009, 89(Suppl):1649S–1656S. *This is a comprehensive review of the potential of nuts to improve cardiovascular risk beyond the lipid profile, with a thorough discussion of mechanisms.*
39. • López-Uriarte P, Bulló M, Casas-Agustench P, et al.: Nuts and oxidation: a systematic review. *Nutr Rev* 2009, 67:497–508. *This is a complete evaluation of studies relating nut consumption to oxidative and inflammatory processes.*
40. Blomhoff R, Carlsen MH, Frost Andersen L, Jacobs DR Jr: Health benefits of nuts: potential role of antioxidants. *Br J Nutr* 2006, 96 (Suppl 2):S52–S60.
41. • Fitó M, Guxens M, Corella D, et al., on behalf of the PREDIMED Study Investigators: Effect of a traditional Mediterranean diet on lipoprotein oxidation. A randomized, controlled trial. *Arch Intern Med* 2007, 167:1195–1203. *This study showed that Mediterranean diets enriched with nuts or virgin olive oil reduced circulating levels of oxidized LDL compared with a control diet.*
42. • Mena MP, Sacanella E, Vázquez-Agell M, et al.: Inhibition of circulating immune cell activation: a molecular antiinflammatory effect of the Mediterranean diet. *Am J Clin Nutr* 2009, 89:248–256. *Mediterranean diets enriched with nuts or virgin olive oil reduce circulating inflammatory markers and inhibit expression of their ligands in blood mononuclear cells.*
43. Bes-Rastrollo M, Sabaté J, Gómez-Gracia E, et al.: Nut consumption and weight gain in a Mediterranean cohort: the SUN Study. *Obesity (Silver Spring)* 2007, 15:107–116.
44. • Bes-Rastrollo M, Wedick NM, Martínez-González MA, et al.: Prospective study of nut consumption, long-term weight change, and obesity risk in women. *Am J Clin Nutr* 2009, 89:1913–1919. *These two reports from large prospective cohorts show inverse associations between the frequency of nut consumption and weight gain, thus allaying the fear of undue weight gain when eating these high-fat foods.*
45. Casas-Agustench P, Bulló M, Ros E, et al.: Cross-sectional association of nut intake with adiposity in a Mediterranean population. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010 Mar 8 PMID: 20219336.
46. • Salas-Salvadó J, Fernández-Ballart J, Ros E, et al.: Effect of a Mediterranean diet supplemented with nuts on metabolic syndrome status: one-year results of the PREDIMED randomized trial. *Arch Intern Med* 2008, 168:2449–2458. *The 1-year results of this ongoing large primary prevention trial show that the Mediterranean diet with nuts is associated with a reduction of metabolic syndrome.*
47. Mattes RD, Dreher ML: Nuts and healthy body weight maintenance mechanisms. *Asia Pac J Clin Nutr* 2010, 19:137–141.
48. Storlien LH, Baur LA, Kriketos AD, et al.: Dietary fats and insulin action. *Diabetologia* 1996, 39:621–631.
49. Jenkins DJ, Kendall CW, Marchie A, et al.: Effect of almonds on insulin resistance in non-diabetic hyperlipidemic subjects: a randomized controlled crossover trial. *Metabolism* 2008, 57:882–887.
50. • Riserus U, Willett WC, Hu FB: Dietary fats and prevention of type 2 diabetes. *Progr Lipid Res* 2009, 48:44–51. *This is an excellent review of epidemiologic and clinical studies that examined dietary fatty acids in relation to risk of diabetes or changes in intermediate markers, with discussion of mechanisms.*
51. Josse AR, Kendall CW, Augustin LS, et al.: Almonds and post prandial glycemia—a dose-response study. *Metabolism* 2007, 56:400–404.
52. Jenkins DJ, Kendall CW, Josse AR, et al.: Almonds decrease postprandial glycemia, insulinemia and oxidative damage in healthy individuals. *J Nutr* 2006, 136:2987–2992.

53. Ruel G, Pomerleau S, Couture P, et al.: Low-calorie cranberry juice supplementation reduces plasma oxidized LDL and cell adhesion molecule concentrations in men. *Br J Nutr* 2008, 99:352–359.
54. Duthie SJ, Jenkinson AM, Crozier A, et al.: The effects of cranberry juice consumption on oxidative status and biomarkers relating to heart disease and cancer in healthy human volunteers. *Eur J Clin Nutr* 2006, 45:113–122.
55. Ertund I, Koli R, Alfthan G, et al.: Favorable effects of berry consumption on platelet function, blood pressure and HDL cholesterol. *Am J Clin Nutr* 2008, 87:323–331.
56. Lehtonen HM, Suomela JP, Tahvonen R, et al.: Berry meals and risk factors associated with metabolic syndrome. *Eur J Clin Nutr* 2010, 64:614–621.
57. Törrönen R, Sarkkinen E, Tapola N, et al.: Berries modify the postprandial plasma glucose response to sucrose in healthy subjects. *Br J Nutr* 2010, 103:1094–1097.
58. Seeram NP: Recent trends and advances in berry health benefits research. *J Agric Food Chem* 2010, 58:3869–3870.
59. Burns Kraft TF, Dey M, Roger RB, et al.: Phytochemical composition and metabolic performance enhancing activity of dietary berries traditionally used by Native North Americans. *J Agric Food Chem* 2008, 56:654–660. *This study is a good example of the potent bioactivity from minor compounds present in plant foods, in this case wild berries from North America.*
60. US Department of Agriculture: Nutrient data base. Available at http://www.nal.usda.gov/fnic/cgi-bin/nut_search.pl. Accessed April 26, 2010.

Texto de chegada 4

FRUTOS SECOS E BAGAS NA SAÚDE DO CORAÇÃO

RESUMO: Os frutos secos são alimentos nutricionalmente densos com matrizes ricas em ácidos gordos insaturados e outros compostos bioativos, tais como L-arginina, fibras, minerais, tocoferóis, fitoesteróis e polifenóis. Em virtude da sua composição única, os frutos secos terão um impacto benéfico na saúde do coração. Estudos epidemiológicos têm associado o consumo de frutos secos com a redução da incidência de doenças coronárias em ambos os sexos e da diabetes nas mulheres. Também há alguma evidência de efeitos benéficos em casos de hipertensão e inflamação. Estudos de intervenção mostram consistentemente que o consumo de frutos secos tem um efeito de diminuição do colesterol e surgem resultados de efeitos benéficos no stress oxidativo, inflamação e reatividade vascular. A tensão arterial, a adipose visceral e o controlo glicémico também parecem ser positivamente influenciados pelo consumo frequente de frutos secos sem que haja o efeito de aumento de peso indevido. As bagas são outros alimentos vegetais ricos em fitoquímicos bioativos, particularmente flavonoides, relativamente aos quais há cada vez mais provas de efeitos benéficos no risco cardiometabólico, efeitos esses que estão ligados ao seu forte poder antioxidante.

PALAVRAS-CHAVE: Frutos secos de árvore / Amendoins. Bagas. Ácidos gordos. Fitoquímicos. Antioxidantes. Flavonoides. Alimentação saudável. Estudos epidemiológicos. Ensaio clínico. Doenças coronárias de coração. Enfarte. Obesidade. Síndrome metabólica. Adipose visceral. Diabetes tipo 2. Aumento de peso. Hipertensão. Colesterol sanguíneo. Triglicerídeos. Controlo glicémico. Insulina. Oxidação. Inflamação. Fluxo sanguíneo.

INTRODUÇÃO: Têm sido desenvolvidas extensas pesquisas sobre os frutos secos e seus efeitos na saúde, desde a publicação em 1992 de um relatório de referência da Adventist Health Study, demonstrando a associação do consumo de frutos secos à diminuição do risco de doenças coronárias (HCD). Este foi seguido pela publicação de um ensaio clínico inovador, demonstrando que uma alimentação rica em nozes reduzia os níveis de colesterol quando comparada com uma dieta saudável estandardizada. [2] Os leitores interessados encontrarão informação atualizada no que diz respeito ao conteúdo nutricional, padrões de consumo e pesquisa epidemiológica e clínica sobre frutos secos e suas consequências para a saúde na monografia de 2006 [3] e num suplemento que colige as comunicações do segundo simpósio internacional sobre saúde e frutos secos [4] de 2007.

Os frutos secos de árvore mais populares são a amêndoa, a avelã, a noz, a pistácio, a macadâmia e a anacardo. O consumidor inclui também neste grupo o amendoim, que botanicamente é um legume mas tem um perfil nutricional semelhante aos frutos secos de árvores. Os frutos secos são alimentos energeticamente densos, particularmente ricos em gordura, sobretudo em ácidos gordos insaturados (Tabela 1); contêm também quantidades

substanciais de fibras, folato, minerais e antioxidantes (tocoferóis e polifenóis) [3, 4]. Estes alimentos vegetais particulares têm sido fontes de energia secundárias nas dietas ocidentais, exceto para os vegetarianos e outros grupos conscientes da sua saúde. Contudo, o consumo de frutos secos tem aumentado recentemente na sequência, tanto da sua inclusão nas linhas orientadoras para uma alimentação saudável, como da cobertura dada pelos media dos resultados recentes que relacionam o consumo de frutos secos e os seus benefícios para a saúde. Devido à relação entre o consumo de frutos secos e a redução de CHD e biomarcadores intermédios, tais como o colesterol sanguíneo, a US Food and Drug Administration publicou recomendações nutricionais sobre frutos secos no verão de 2003 [5]. Desde então, os frutos secos têm-se tornado componente indispensável da alimentação saudável para o coração, como foi já publicado neste jornal de 2007 [6].

As bagas são um grupo de frutos que não é particularmente consumido pela maioria das populações ocidentais, apesar dos seus benefícios para a saúde, como documentado em pesquisas recentes [7..]. Ao contrário dos frutos secos, as bagas são baixas em calorias, isentas de gordura e com elevada humidade. Também, contêm muitas substâncias bioativas, tais como fibras, vitamina C, ácido fólico e minerais, e são particularmente ricas em polifenóis, particularmente flavonoides (antocininas e pracinidinas)[3]. As antocianinas incluem o maior grupo de pigmentos vegetais naturais solúveis e conferem às bagas as suas cores brilhantes. Além da associação específica entre o consumo de bagas ou flavonoides das bagas e os resultados cardiovasculares em estudos prospetivos,

ensaios clínicos têm demonstrado o potencial do consumo de bagas na melhoria dos marcadores intermédios de doenças de coração, em relação ao seu apoio a mecanismos antioxidantes [7.., 8]. Nesta revisão, sintetizamos os conhecimentos recentes sobre a área crescente dos frutos secos, bagas e saúde do coração. Também serão considerados os efeitos do consumo destes alimentos especiais em resultados relacionados, tais como obesidade e diabetes, e outros aspetos da saúde.

Frutos secos e risco de doenças cardiovasculares

Estudos de prospeção epidemiológica, levados a cabo nas últimas duas décadas nos Estados Unidos (EU) e na Europa, têm demonstrado uma associação consistente entre o aumento da frequência do consumo de frutos secos e a redução de CHD [9]. O consumo de frutos secos continua a ser alvo de intensas pesquisas em estudos prospetivos explorando pontos de avaliação cardiovascular específicos (entre as quais CHD fatais, diabetes tipo 2, enfarte, insuficiência cardíaca e hipertensão) e estudos de alimentação em ambiente controlado explorando biomarcadores intermédios de risco de doença cardiovascular.

Estudos prospetivos com pontos clínicos de avaliação

Foi elaborada uma síntese dos dados do Adventist Health Study, Iowa Women's Health Study, Nurses' Health Study (NHS), and Physician's Health Study (PHS usando a mediana de cada categoria de consumo de frutos secos associado ao risco relativo de CHD fatal [10]. Cada estudo incluía um

gradiente de resposta a cada dose distinta e calculou-se uma redução de 8,3% do risco de morte por CHD por cada semana de consumo de frutos secos. Uma análise recente a estes 4 estudos americanos mostrou um risco relativo (RR) de 0,65 (95%CI, 0,47-0,89) de mortalidade por CHD

entre os participantes que comeram frutos secos pelo menos duas vezes por semana em comparação com aqueles que nunca ou raramente consumiram frutos secos [11.].

Tabela 1 Conteúdo energético e de gordura e média de ácido gorduroso e composição esteroide dos frutos secos por dose de 28g

Frutos secos	energia, kcal	gordura, g (%En)	SFA, g	MUFA, g	PUFA, g	LA, g	ALA, g	PS, mg
Amêndoas	162	14,2 (78,9)	1,1	9,0	3,4	3,4	0,0	33,6
Castanha do Pará (secas)	183	18,6 (91,5)	4,2	6,9	5,8	5,7	0,0	NR
Caju	154	13,0 (76,0)	2,6	7,6	2,2	2,2	0,0	44,2
Avelã	176	17,0 (86,9)	1,3	12,8	2,2	2,2	0,0	26,9
Nozes da Macadâmia	201	21,2 (94,9)	3,4	16,5	0,4	0,4	0,1	32,5
Amendoins	149	13,8 (83,4)	1,9	6,8	4,4	4,4	0,0	61,6
Noz-pecã	193	20,2 (94,2)	1,7	11,4	6,0	5,8	0,3	28,6
Pinhão (seco)	188	19,2 (91,9)	1,4	5,3	9,5	9,3	0,0	39,5
Pistachios	156	12,4 (71,5)	1,5	6,5	3,8	3,7	0,1	59,9
Noz	183	18,3 (90,0)	1,7	2,5	13,2	10,7	2,5	20,2

ALA ácido α -linolénico; Energia; LA ácido linoléico; MUFA ácidos gordos mono-insaturados; PS esteróis de planta; PUFA ácidos gordos poli-insaturados; SFA Ácidos gordos saturados

Dados do US Department of Agriculture [60]

Apesar das descobertas anteriores, levadas a cabo pela NHS, sugerirem que o consumo de nozes e manteiga de amendoim estar associado à redução da incidência da diabetes tipo 2 nas mulheres [12], não foi encontrada nenhuma associação entre o consumo de frutos secos e a diabetes tipo 2 nos homens participantes nestes estudos [13]. À luz do aumento de risco de doença cardiovascular (DCV) entre as pessoas com diabetes, os investigadores avaliaram posteriormente a relação entre o consumo de frutos secos e as DCV (incluindo CHD e enfarte) entre mulheres com diabetes tipo 2 inscritas no SNS e descobriram uma diminuição do risco de DCV (RR= 0,56; 95% CI, 0,36-0,89) [14]. Em alternativa, não foi encontrada qualquer associação entre a

frequência do consumo de frutos secos e o enfarte isquémico [15] e o risco de insuficiência cardíaca [16] no grupo PHS, mas foi encontrada uma relação em forma de J entre o consumo de frutos secos e o enfarte hemorrágico [15]. Contudo, houve um número limitado de enfartes hemorrágico nas categorias mais elevadas do consumo de frutos secos, portanto são claramente necessários estudos anteriores para confirmar ou descartar este improvável efeito adverso dos frutos secos.

Estudos prospectivos do consumo de frutos secos e hipertensão

Dois estudos prospectivos avaliaram a relação entre a frequência do consumo de frutos secos e a incidência de hipertensão com resultados discordantes [17, 18]. Num grupo de 15.966 participantes no PHS [17] sem hipertensão como característica comum e tendo 237.585 pessoas seguidas por ano, os rácios aleatórios corrigidos para hipertensão iam de 0,97 (95% CI, 0,91-1,03) por consumo de frutos secos 1 a 2 vezes por mês até 0,82 (95% CI, 0,71-0,94) por consumo de frutos secos 7 ou mais vezes por semana. Numa análise secundária estratificada por índice de massa corporal (IMC), houve uma relação inversa entre o consumo de frutos secos e hipertensão nos participantes magros mas não naqueles que sofriam de excesso de peso ou obesidade no início. Contudo, estes resultados devem ser encarados com cuidado porque não foram tidos em conta neste estudo, nem o consumo de sal, nem as mudanças de peso, dois dos maiores fatores que influenciam o risco de hipertensão. O segundo estudo, que envolveu um grupo de 9919 universitários espanhóis seguidos durante uma média de 4,3 anos na *Seguimiento Universidad de Navarra (SUN)*, após ajustar alguns fatores de confusão, nomeadamente a exposição ao sal e mudanças de peso durante a observação, não encontrou qualquer correlação entre o consumo de frutos secos e a incidência de hipertensão. A proporção aleatória entre a categoria maior *versus* a menor de consumo de frutos secos foi de 0,77 (95%CI, 0,46-1,30) nesta amostra relativamente jovem de adultos com formação superior com o baixo nível inicial de hipertensão, portanto, uma maior amostra e uma observação mais duradoura poderia oferecer um

melhor nível de evidência.

Resumidamente, dados epidemiológicos limitados dão a conhecer apenas provas circunstanciais de um efeito protetor do consumo de frutos secos no desenvolvimento de hipertensão.

Consumo de frutos secos e marcadores inflamatórios em estudos epidemiológicos

Uma vez que a inflamação é um processo chave em aterogenese, o mecanismo pelo qual o consumo de frutos secos pode diminuir o risco de CHD, será a melhoria do estado inflamatório, que pode ser estimado pelos níveis de biomarcadores circulatórios. Três estudos transversais investigaram o consumo de frutos secos em relação a biomarcadores inflamatórios circulatórios [19-21]. Numa análise aos dados de perto de 6000 participantes no *Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis*, o consumo de frutos secos e sementes foi inversamente associado a níveis de marcadores inflamatórios, Proteína c-reativa (PCR), interleucina 6 (IL-6), e fibrinogénios [19]. Outro estudo prospectivo pelo Sistema Nacional de Saúde (SNS) de 987 mulheres diabéticas mostrou uma relação direta entre o consumo de frutos secos e o aumento dos níveis de adiponectina no plasma, uma secreção no tecido adiposo citocina com propriedades anti-inflamatórias e antiarteroesclerose [20]. O terceiro estudo foi efetuado em 772 indivíduos mais velhos com grande risco de CHD a viver em Espanha com o propósito de avaliar a relação entre a adesão a uma dieta mediterrânica e os seus componentes alimentares e os níveis de marcadores inflamatórios solúveis. A média corrigida dos níveis de soro de adesão intercelular da molécula 1 (ICAM-1), mas não daqueles CRP ou IL-6, diminuiu contra o aumento de tercis de consumo de frutos secos [21].

Estudos sobre alimentação de frutos secos com consequência em marcadores intermédios

Lípidos

Os efeitos do consumo de frutos secos nos lípidos do sangue e lipoproteínas têm sido investigados, até à data, em mais de 40 estudos de intervenção de frutos secos. Uma análise combinada recente de 25 estudos clínicos desenvolvidos em sete países, examinando dietas ricas em frutos secos *versus* dietas de controlo com efeito nos lípidos do sangue, determinou que os frutos secos tinham um efeito de diminuição de colesterol relativo à dose utilizada, similar por género, relevante em todos os grupos etários, e independente do tipo de fruto seco testado [22..]. Especificamente, o consumo de 67g (2,4oz) de frutos secos diariamente produzido em média o resultado estimado de uma redução de 10,9mg/DI (5,1%) no colesterol total, 10,2mg/dL (7,4%) no colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e 0,22mg/dL (8,3%) in LDL em proteína de elevada densidade (HDL) numa taxa ($P < 0,001$ para todos). Os frutos secos não tiveram efeitos significativos no colesterol HDL ou triglicerídeos, exceto nos participantes com serum de triglicerídeos superior a 150mg/dL, nos quais se observou uma notável redução de 10,2mg/dL. Significativamente, observou-se um efeito mais pronunciado de diminuição de lípidos em participantes com nível base de colesterol LDL elevado ($> 13\text{mg/dL}$) e baixo IMC ($< 25\text{kg/m}^2$), assim como naqueles que seguiam dietas ocidentais. Embora o efeito de redução de colesterol seja consistente com os resultados de ensaios clínicos individuais anteriores, a interação observada entre o consumo de frutos secos e IMC foi uma descoberta nova.

Pode haver razões para uma boa diminuição dos lípidos, devido a uma dieta de frutos secos em pessoas obesas ou com excesso de peso e naqueles com síndrome metabólica. Estudos mostraram que a resposta do colesterol LDL a dietas pobres em ácidos gordos [23] ou o desafio brusco dietético de colesterol com uma alimentação rica em ovos [24] é mais fraca em indivíduos obesos, insulino-resistentes do que em indivíduos magros e insulino-sensitivos. Também foi relatado que um maior IMC está associado a uma menor resposta do colesterol LDL às dietas hipolipidémicas [25]. A elevada síntese do colesterol e a reduzida absorção intestinal de colesterol em indivíduos insulino-resistentes [26] pode explicar estas descobertas, uma vez que um melhor fluxo de colesterol através do fígado irá regular os recetores de LDL e torna-los resistentes a uma regulação adicional através de uma alteração dietética de ácidos gordos, enquanto que uma diminuição do fluxo de colesterol por enterócitos diminuiria tanto a resposta de aumento de colesterol ao colesterol da dieta como o efeito de redução do colesterol de esteróis vegetais. Os frutos secos são ricos em esteróis vegetais, que provavelmente contribuem para o seu efeito de redução do colesterol [27], mas isto poderá ser menos eficaz se a absorção do colesterol for baixa. Recentemente surgiram provas sugestivas de que os fitoesteróis nos frutos secos estão relacionados com a resposta do colesterol LDL observado após o seu consumo [28]. A ter em conta dois ensaios recentes e aleatórios que testaram dietas enriquecidas com anacardos e nozes [29] e frutos secos variados [30] em comparação com dietas de controlo em pacientes obesos com no síndrome metabólica falharam na demonstração do efeito

previsível de diminuição do colesterol, o que apoia as descobertas da análise aleatória e da associação inversa entre os lípidos sanguíneos e os frutos secos e IMC [22..].

À luz da composição única das nozes, a fração de gordura que é particularmente rica em ácidos gordos polissaturados (ácidos linólicos e α -linólicos) [3], Banel e Hu conduziram uma meta-análise separada de 13 ensaios clínicos [31..] para explorar o efeito de dietas ricas em nozes nos níveis de lípidos sanguíneos. Comparado com as dietas de controlo, as dietas que contêm nozes em quantidades variáveis de 30 a 180g/d (10-24% de energia) estão associadas a reduções equilibradas do colesterol total e colesterol LDL de 10,3 mg/dL e 9,2 mg/dL ($P < 0,001$ de ambos) respetivamente, em concordância com resultados de análises aleatórias de diferentes tipos de frutos secos [22..]. Ensaios clínicos recentes bem controlados usando dietas de nozes contra dietas de controlo confirmam a eficácia das nozes na

redução de colesterol [32-35]. Uma vez que as intervenções duravam de 4 a 8 semanas na maioria dos estudos, Torabian *et al* [34] investigaram se o efeito lipídico a curto prazo do consumo de nozes (12% de energia) poderia ser mantido e aumentado para um período de 6 meses em 87 indivíduos livres de qualquer conselho dietético. A inclusão de nozes como parte da dieta habitual reduziu o colesterol total em 5 mg/dL ($P=0,02$) e os triglicerídeos em 8 mg/dL ($P=0,03$), com uma diminuição significativa de cerca de 3,5 mg/dL no colesterol LDL ($P=0,06$). Em consistência com os resultados da análise já referida [22..], descobriu-se que os efeitos de diminuição lipídica por nozes são mais pronunciados entre os participantes com colesterol LDL mais elevado de base. Além disso, Tapsell *et al.* [35] testaram a dieta de nozes contra a dieta de controlo durante mais de um ano em participantes obesos com diabetes e demonstraram a manutenção, embora baixa, de redução do colesterol LDL e aumento do colesterol HDL com a dieta de nozes.

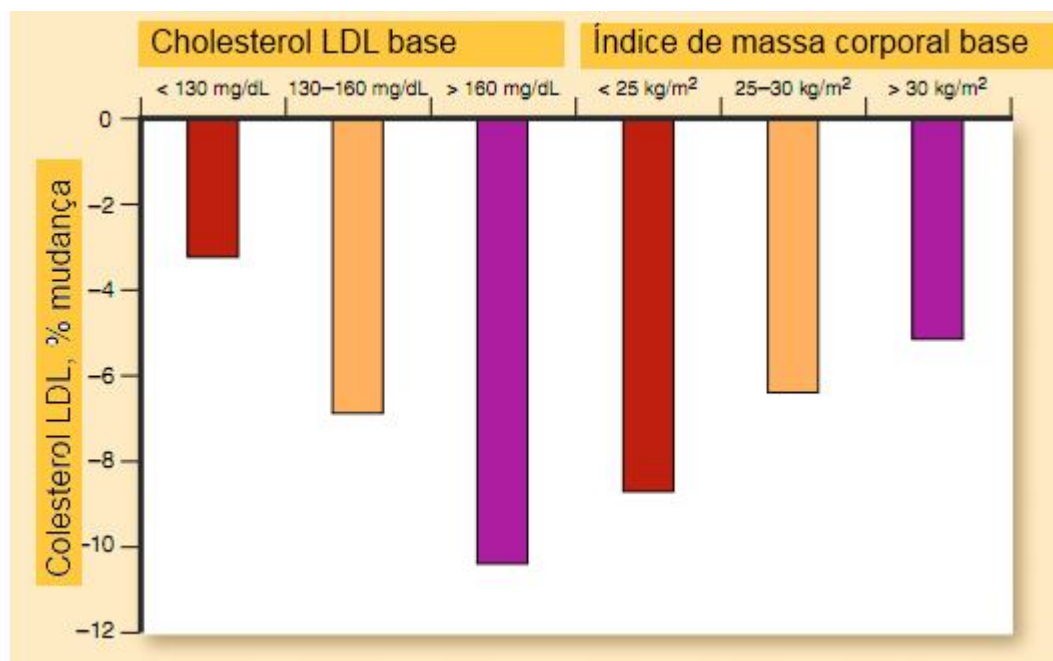


Figura 1 - Resposta do colesterol LDL ao consumo de frutos secos, tendo por base colesterol LDL e índice de massa corporal (IMC).

Tensão arterial

Não se observou qualquer efeito da alimentação com frutos secos na tensão arterial nos curtos estudos clínicos comuns, levados a cabo até à data com resultados em mudanças do perfil lipídico, mas o maior ensaio da *Prevencion com Dieta Mediterranea* (PREDIMED) mostrou uma redução significativa na pressão arterial sistólica e diastólica nos participantes de alto risco, após 3 meses de dieta mediterrânica suplementada por 30g/d de uma mistura de frutos secos em comparação com a dieta de controlo, mas não após dieta mediterrânica suplementada com azeite virgem [36]. Um relatório recente deste estudo fornece-nos uma explicação no mecanismo possível deste efeito antihipertensivo, mostrando que ambas as dietas, a enriquecida com frutos secos e a enriquecida com azeite, estavam associadas à redução do colesterol de taxa fosfolipídica das membranas eritrócitas, que iria traduzir-se no aumento da fluidez da membrana [37]. De futuro, estudos adequados poderão desvendar o verdadeiro efeito anti-hipertensivo do consumo de frutos secos.

Fatores de risco emergentes de doença cardiovascular

Em virtude da sua composição única de gordura, os frutos secos tendem a afetar os marcadores de aterogénese exceto no perfil lipídico ou no metabolismo de hidratos de carbono. Mais recentemente, têm sido avaliados os efeitos dos frutos secos nos novos fatores de risco em CHD incluindo o stress oxidativo, inflamação e reatividade vascular [6, 38., 39.]. A imagem emergente é de que o consumo

frequente de frutos secos tem efeitos benéficos nos fatores de risco cardiovasculares, para além de uma redução bem definida de colesterol.

No que diz respeito à oxidação, os frutos secos são fonte importante de tocofenóis e componentes fenólicos com um potente efeito antioxidante, como mostrado pela redução na peroxidação lipídica ou dano oxidativo do ADN com extratos de frutos secos em estudos *in vitro* e pelos efeitos benéficos do consumo de frutos secos na oxidação lipídica, atividade antioxidante enzimática e formação de produtos de oxidação de colesterol em estudos experimentais, quer agudos quer crónicos, em animais [38., 40]. Os marcadores oxidativos após a ingestão de ácidos gordos mono-insaturados ricos-(MUFA) em frutos secos, predominantemente amêndoas, têm sido examinados em vários estudos alimentares aleatórios, normalmente restritos e durando de 3 a 8 semanas [39.]. Os biomarcadores de oxidação eram efeitos secundários na maioria destes estudos, que mostravam resultados inconsistentes, tanto a nível de redução como de não alteração da oxidação, mas em nenhum caso houve agravamento do estado de oxidação em comparação com várias dietas de controlo. Alguns estudos alimentares de características semelhantes avaliaram biomarcadores oxidativos após o consumo de dietas suplementadas com nozes ricas em ácidos de gordura poli-insaturada (PUFA) *versus* outros regimes alimentares saudáveis [38.]. Em geral, não houve diferenças no estado de oxidação entre dietas. Num ensaio estatisticamente superior da PREDIMED, a dieta mediterrânica enriquecida com 30g de uma mistura de frutos secos consumida

diariamente durante 3 meses por indivíduos mais velhos, com maior risco cardiovascular, resultou numa diminuição do nível de LDL oxidado em comparação com a dieta de controlo, mas não com a dieta enriquecida com azeite virgem [41.]. As provas disponíveis sugerem que frutos secos ricos em MUFA podem melhorar o estado oxidativo moderadamente, atendendo a que os frutos secos ricos em PUFA (nozes) tem um efeito neutro ou ligeiramente benéfico, mas não há estudos que demonstrem que a frequência do consumo de frutos secos reduz as defesas antioxidantes.

No que diz respeito à inflamação, o elevado conteúdo de componentes fenólicos nos frutos secos, em particular na película (pele exterior), pode antecipar um efeito anti-inflamatório pelo consumo frequente de frutos secos, como sugerido nos estudos transversais [19-21]. Não obstante, os níveis de PRC no plasma, uma medida standardizada da inflamação de baixo nível sistémica, normalmente não foram afetados nos ensaios alimentares controlados (como revisto em 2008) com amêndoas, nozes ou frutos secos misturados [38.]. Há que ter em conta que os biomarcadores inflamatórios foram sempre consequências secundárias dos ensaios sobre o consumo de frutos secos; assim, a capacidade estatística de detetar mudanças significativas constitui um problema real. Um subestudo posterior do ensaio da PREDIMED analisou quer as mudanças ao longo de 3 meses nos marcadores inflamatórios circulatórios, quer a expressão das ligações das moléculas inflamadas nos monócitos circulantes após a investigação dietética em que uma foi suplementada com 30 g/d de uma mistura de frutos secos [42.]. As descobertas indicam reduções nos

mediadores circulatórios inflamatórios, e de forma importante, na redução da expressão monócita das ligações proinflamatórias após comparação da dieta mediterrânica com e sem azeite com a dieta de controlo, começando assim a desvendar as bases moleculares dos efeitos anti-inflamatórios do consumo de frutos secos.

Quanto à reatividade vascular, tanto a dieta com nozes como as refeições com nozes mostraram uma melhoria da dilatação pelo fluxo sanguíneo (DFS) nas artérias braquiais em dois estudos anteriores, desenvolvidos em pacientes saudáveis e hipercolesterolémicos [38.]. Num estudo transversal recente em pacientes diabéticos comparou uma dieta de nozes com uma dieta isoenergética *ad libitum* sem nozes contendo ácidos gordos saturados (AGS) semelhantes, com a duração de 8 semanas, confirmou-se que as nozes melhoram as FMD [33]. Este efeito benéfico das nozes pode ser atribuído, em parte, ao seu elevado conteúdo de PUFA, antioxidantes e L-arginina, o precursor do óxido nítrico, que é um vasodilatador endógeno. Apesar de haver falta de estudos sobre reatividade vascular após o consumo de dietas enriquecidas com frutos secos e outras nozes, prevê-se encontrar efeitos benéficos semelhantes porque todos os frutos secos contêm quantidades substanciais de componentes bioativos que podem influenciar favoravelmente a reatividade vascular. Esta é uma área chave para futuras pesquisas.

O consumo de frutos secos promove a obesidade?

Os frutos secos são alimentos ricos em gordura e energeticamente densos, o que os liga por vezes ao aumento de peso. Contudo, estudos epidemiológicos passados não apoiam a ideia de que o consumo de frutos secos pode promover o aumento de peso [3, 4, 6]. Consistente com descobertas epidemiológicas anteriores nos Estados Unidos, o estudo SUN (8800 homens e mulheres adultos) concluiu que os participantes que consumiam frutos secos frequentemente (≥ 2 vezes por semana) apresentavam uma redução de 40% do risco de aumento de peso (probabilidades médias de 0,61; 95% CI 0,47-0,79) durante uma monitorização de 28 meses [43.]. Notavelmente, o SUN foi o primeiro estudo epidemiológico que avaliou o efeito direto do consumo de frutos secos no peso corporal numa forma prospetiva e apresentou resultados de que a frequência do consumo de frutos secos não está associada ao aumento de peso, alterações no peso corporal, incidência de excesso de peso ou obesidade ao longo do tempo. Bes-Rastrollo *et al.* [44.] investigaram recentemente a relação entre o consumo de frutos secos e mudanças de peso a longo prazo após monitorização durante 8 anos em 51.188 mulheres do grupo do SNS. Usando análises multivariadas, de forma a controlar o estilo de vida e outros fatores dietéticos, o consumo frequente de frutos secos (≥ 2 vezes por semana) ficou associado a uma diminuição do risco de obesidade (proporção de 0,77; 95%CI, 0,57-1,02; P por tendência = 0,003). Além disso, no estudo transversal cuja amostra era de 847 indivíduos recrutados do estudo da PREDIMED, o consumo foi inversamente associado a medidas de adipose (IMC e

perímetro abdominal) independentemente de outras variáveis. De acordo com coeficientes regressivos do consumo de frutos secos *versus* variáveis de adiposidade, foi previsto que o IMC e o perímetro abdominal diminuiriam 0,78 kg/m² e 2,1cm, respetivamente, por cada ingestão diária de 30g de frutos secos [45].

Vários estudos clínicos limitados em indivíduos livres exploraram principalmente a associação entre o consumo moderado de frutos secos e peso corporal e não se observou aumento do peso corporal, como referido [3, 4, 6]. Resultados recentes dos estudos da PREDIMED demonstraram uma diminuição da prevalência de MetS, principalmente devido à redução da adipose visceral, após a intervenção de 12 meses em participantes que seguiram a dieta mediterrânica suplementada com 30g de frutos secos por dia [46.]. Outros ensaios clínicos sugerem que as amêndoas e outros frutos secos poderão favorecer a perda de peso em dietas energeticamente restritivas, possivelmente por aumentar a conformidade, mas poderá ser também considerada a contributo de outros fatores, como o aumento da saciedade, da termogénese e de má absorção das gorduras documentada em vários estudos como elevadas excreções fecais de gordura [47].

Efeito dos frutos secos no controlo glicémico

A diabetes tipo 2 é uma condição do declínio metabólico com um aumento do risco da doença cardiovascular. O consumo de frutos secos numa dieta saudável pode aliviar esta condição disponibilizando nutrientes chave que têm impacto nos processos da doença, tais como ácidos gordos insaturados e compostos com

atividade antioxidante. A gordura dietética, por exemplo, demonstrou influenciar a ação da insulina através de mecanismos associados com a estrutura e possível sinalização celular [48].

Como discutido, a evidência epidemiológica do consumo de frutos secos e o risco de diabetes é contraditória, com benefícios sugeridos para as mulheres [12] mas não para os homens [13]. Alguns estudos interventivos examinaram os efeitos de dietas enriquecidas com frutos secos no controlo glicémico em pacientes diabéticos e em estados de insulino-sensibilidade em insulino-resistentes. Estudos anteriores já referidos mostraram efeitos inconsistentes de dietas enriquecidas com frutos secos na glucose em jejum e pósprandial e hemoglobina A1C em pacientes com diabetes ou em insulino-sensibilidade em pacientes com obesidade ou MetS, [3, 4, 6]. Dois pequenos estudos recentes, de 3 meses, contudo, detetaram uma redução nos níveis de insulina em pacientes espanhóis obesos com síndrome metabólica a quem foi dado 30g/d de uma mistura de frutos secos [30] e em pacientes australianos obesos com diabetes que consumiam 30g/d de nozes [35]. O relatório trimestral do estudo mais abrangente da PREDIMED [36] também demonstrou que a dieta mediterrânica enriquecida com frutos secos está associada a uma melhoria da insulino-sensibilidade e níveis de glucose em jejum em participantes não diabéticos e diabéticos, respetivamente. Num estudo transversal mais curto, de um mês de duração, com 27 canadianos hiperlipidémicos, verificou-se um efeito com 36g/d e 73g/d de amêndoas numa dieta baixa em gordura e uma dieta usando muffins como alimento de controlo [49]. Ambas as dietas com amêndoas foram

associadas a uma diminuição de 24-h C-peptídeo urinário, uma medida indireta da secreção de insulina. A consistência do resultado em populações diferentes reforça a evidência de um efeito benéfico dos frutos secos em percursos relacionados com o desenvolvimento da diabetes.

Dado um possível efeito contributivo das gorduras insaturadas nos frutos secos, estes resultados são consistentes com as associações descritas entre gorduras dietéticas e risco de diabetes [50..]. Outras componentes nos frutos secos, tais como os componentes fenólicos, podem também proporcionar proteção efetivando marcadores intermédios da doença, tais como fluido sanguíneo melhorado após uma dieta de nozes em pacientes obesos com diabetes tipo 2 [33]. Na verdade, os frutos secos fornecem uma multiplicidade de constituintes bioativos além de ácidos gordos insaturados [27], que podem ir ao encontro de um conjunto de processos na evolução de doenças degenerativas, tais como a diabetes. Os estudos a curto prazo mostraram os fortes efeitos benéficos das refeições de frutos secos. Por exemplo, descobriu-se que, adicionando amêndoas a uma refeição de pão branco, se reduzia o índice glicémico de uma maneira diretamente relacionada com a dose [51]. Concentrações glicémicas reduzidas levam a menor exigência na secreção de insulina, que é um fator chave no desenvolvimento da diabetes. Outro estudo do mesmo grupo descobriu menores danos por proteínas oxidativas quando as concentrações de glucose pósprandial foram melhoradas pelo consumo de amêndoas [52]. Tomando todos estes estudos em conta, chegamos a um melhor entendimento de como o consumo de frutos secos pode ser benéfico na criação de condições para combater a diabetes.

Bagas e saúde do coração

Existe um emergente corpo científico que demonstra o impacto do consumo de bagas na saúde cardiovascular. Uma revisão recente de estudos clínicos publicados no período de 1998 a 2009 descobriu que os constituintes das bagas, nomeadamente os polifenóis, as vitaminas, os minerais e as fibras estão ligados à melhoria dos perfis de risco cardiovascular [7..]. Este artigo examinou 20 estudos dietéticos que usaram diferentes bagas e diferentes formas com efeitos principais relacionados com melhoria do estado do serum antioxidante e com frações reduzidas de lípidos oxidadas reduzidas. Estes efeitos podem ser atribuídos a componentes com capacidade antioxidante, em particular a vitamina C e os flavonoides de antocianina, que surgem variavelmente em diferentes bagas [8], razão pela qual foram observados diferentes efeitos, dependendo do tipo de baga consumido [7..]. Tal como esperado, notaram-se em graus diferentes efeitos benéficos de homeostase da glicose, metabolismo lipídico e tensão arterial .

Pelos estudos recenseados, e não obstante as diferenças na estrutura dos estudos, os resultados relativamente consistentes sobre o estado oxidativo refletem provavelmente o principal elemento protetor presente nas bagas [7..]. Por exemplo, num estudo com 30 homens saudáveis, o aumento da dose diária de sumo de mirtilo por mais de três períodos de 4 semanas foi associado a reduções significativas de concentrações oxidadas de LDL, que foram acompanhadas de um nível diminuído de moléculas de adesão celular em circulação [53]. Este resultado contrasta com o de um estudo anterior envolvendo mulheres jovens e saudáveis, que consumindo 750 ml/d de sumo de

mirtilo, não sofreram qualquer alteração do estado antioxidante sanguíneo e em danos oxidativos no ADN [54], mas as diferenças podem estar relacionadas com a população estudada, condições da bebida de teste e medição de resultados. Estudos clínicos recentes e aleatórios relacionaram que o consumo de misturas de bagas (mirtilos, amoras alpinas e cassis) com o aumento das concentrações de polifenóis e de vitamina C no plasma, redução da tensão arterial , aumento do colesterol HDL e inibição da função das plaquetas [55] e também com a redução dos níveis de alanina aminotransferase como marcador da gordura relacionada com a inflamação do fígado no MetS [56]. Também são detetáveis efeitos agudos de refeições com bagas, como demonstrado num estudo alimentar recente que mostra respostas glicémicas retardadas e atenuadas resultando da adição das bagas (cassis, mirtilos, arando e morangos) aos níveis de açúcar [57].

O valor do consumo de bagas para influenciar o estado oxidativo está a tornar-se mais claro com o maior compreensão do desenvolvimento das doenças cardiovasculares e o papel dos constituintes dietéticos químicos na modelação de processos relacionados [7.., 58]. Por exemplo, a análise de células *in vitro* e em cultura da bioatividade das bagas tradicionalmente consumidas pelos nativos norte-americanos (arbusto de arando, de aronia, *buffaloberry*-prateado e *amelanchier*) demonstraram um conjunto de efeitos benéficos, incluindo melhorias na utilização na glucose, modulação do metabolismo lipídico e gasto de energia e inibição da expressão do gene proinflamatório associado à inflamação vista na diabetes tipo 2 [59].

Em resumo, as bagas disponibilizam quantidades substanciais de vitamina C, flavonoides e outros químicos potentes com efeitos antioxidantes e há evidência cada vez maior de que elas são benéficas para a saúde. Em particular, as bagas têm uma influência positiva no estado oxidativo e nos mecanismos associados ao baixo nível de inflamação sistémica que está subjacente ao progresso da diabetes e das doenças cardiovasculares. Podem ser necessários estudos a longo-prazo sobre características dietéticas que incluam quantidades substanciais de bagas numa dieta saudável para confirmar a contribuição do consumo de bagas na prevenção da diabetes e doença cardiovascular.

Conclusões

Os frutos secos são alimentos energeticamente densos e ricos em macronutrientes, micronutrientes e fitoquímicos bioativos. A composição única dos frutos secos é crítica pelo seu efeito na saúde do coração. Na verdade, os resultados de estudos epidemiológicos e clínicos oferecem provas consistentes dos efeitos benéficos do consumo de frutos secos no risco de CHD assim como na diabetes nas mulheres, e em maiores e emergentes fatores de risco cardiovascular, tal como resumido na Tabela 2. Até à data, existem provas convincentes de que incluir frutos secos na alimentação diária aumentará os seus efeitos cardioprotectores. De notar que os efeitos benéficos ocorrem sem contribuir para o aumento de peso, ou até com a redução da adiposidade e combatem múltiplos fatores

de risco e mecanismos cardiovasculares, o que ajuda a explicar porque é que os frutos secos reduzem os riscos de CHD. A compreensão dos mecanismos biológicos subjacentes aos efeitos dos frutos secos em mediadores das CHD, obesidade, MetS e diabetes poderá ajudar na criação de dietas que incluam frutos secos para maximizar a redução de risco de doenças crónicas. As pesquisas em curso, tais como o grande ensaio aleatório da PREDIMED (resultados finais esperados para 2012), em que uma refeição diária de frutos secos variados no contexto da dieta mediterrânica proporciona aos participantes com elevado risco cardiovascular numa fase deste estudo a longo-prazo [36, 41., 46.], pode eventualmente resolver questões críticas a saber se, em comparação com dietas saudáveis controladas sem frutos secos, uma dieta suplementada com uma dose diária de frutos secos previne episódios cardiovasculares e o desenvolvimento de outras doenças crónicas prevalentes, incluindo diabetes, cancro e distúrbios neurodegenerativos.

As bagas são outro exemplo de uma alimentação vegetal rica em fitoquímicos bioativos, embora, ao contrário dos frutos secos, elas apresentem baixos níveis de energia. A pesquisa sobre as bagas é mais recentes e menos abundante do que no caso dos frutos secos mas há um crescente corpo de resultados que demonstram o seu forte poder antioxidante e a capacidade de impacto benéfico em vários percursos intermédios do risco cardiometabólico.

Tabela 2 Efeitos do consumo de frutos secos em doenças cardiovasculares e fatores de risco: resumo de evidências científicas

Doença/fator	Efeito	Nível de evidencia
Estudos Epidemiológico:		
Doença coronária	diminuição	++
Enfarte isquêmico	sem alteração	++
Insuficiência cardíaca	sem alteração	+
Hipertensão	diminuição	+/-
Diabetes	sem alteração/Diminuição	+/-
Marcadores inflamatórios	diminuição	+
Peso corporal	sem alteração/diminuição	++
Estudos clínicos		
Perfil lipídico		
Colesterol Total	diminuição	++
Colesterol LDL	diminuição	++
Colesterol HDL	sem alteração/Diminuição	+
Triglicerídeos	sem alteração/Diminuição	+
Sensibilidade a insulina	sem alteração/Diminuição	+/-
Tensão arterial	sem alteração/Diminuição	+/-
Oxidação	sem alteração/Diminuição	+/-
Inflamação	sem alteração/Diminuição	+/-
Reatividade Vascular	aumento	+
Peso corporal	sem alteração	++
Adipose visceral	diminuição	+

+/-, evidência equivocada; +, evidência limitada de alguns estudos; ++, evidência de vários estudos; HDL lipo-proteína de elevada densidade; LDL lipo-proteína de baixa densidade

Glossário

Termo	Equivalente	Contexto	Fonte
Absorbance capacity	Capacidade de absorção	O teste laboratorial mais conhecido por ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) mede a capacidade de absorção de radicais de oxigénio por uma determinada substância.	http://www.xantonas.pt/antioxidantes.html
Acid derivatives	Derivados de ácidos	Em todos os derivados de ácidos carboxílicos é conservado o grupo $R_1C(O)$ e o carbono estabelece uma ligação σ com o átomo apropriado do grupo substituinte respetivo, indicados a azul na figura 1.	http://disciplinas.ist.utl.pt/ggeral/biomedica/Jmol/jmol/amidas.html
Activated macrophages	Macrófagos ativados	... animais F1 resultantes do cruzamento das 2 (2 x 13), e foi medida a magnitude de proliferação das células T em resposta aos macrófagos ativados por antígeno	http://users.med.up.pt/cc04-10/Imunologia/desgravadas/13_Antigenio.pdf
Activity antiproliferative	Atividade antiproliferativa	A trabectedina mostrou exercer atividade antiproliferativa in vitro e in vivo contra um leque de linhas...	http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARME/D/MEDICAMENTOS_USO_HUMANO/AVALIACAO_ECONOMICA_E_COMPARTICIPACAO/MEDICAMENTOS_USO_HOSPITAL/DL_N_195_2006_3_OUT/PROCESSOS_DIFERIDOS/033_034_trabectedina_ParecerNet_revisaoNov2010.pdf
Alkaline environment	Ambiente alcalino	Estes cimentos são diferentes dos cimentos Portland, pois são obtidos em um ambiente fortemente alcalino, não sendo necessária a presença de clínquer.	http://www.cmade.ubi.pt/pdf/a_national_conferences/ARTIGO_ABM33.pdf
Anthocyanin composition	Composição em antocianinas	Os mirtilos da Madeira e dos Açores apresentam uma composição em antocianinas muito rica e variada em relação ao mirtilo comum	http://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/3212
Anthocyanins	Antocianinas	As antocianinas são compostos químicos presentes nas cascas das uvas, cuja cor muda de acordo com a acidez do ambiente circundante	http://www.sisbio.pt/index2.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=58&Itemid=3
Antiallergic	Atividade	Certos derivados de cromonas, naturais e/ou sintéticos, desempenham variadíssimas funções	http://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/3918/

activities	antialérgicas	biológicas entre as quais se salientam a atividade citotóxica contra células cancerosas, atividade antialérgica, anti-inflamatória, antitumoral e antioxidante.	1/Mestrado%20Clementina%20Santos.pdf
Antibiotic resistance	Resistência a antibióticos	A descoberta, além de ir na contramão do senso comum, também mostra o quanto a resistência a antibióticos é um fenómeno natural enraizado no genoma de micróbios.	http://www.rcmpharma.com/atualidade/id/01-09-11/resistencia-antibioticos-e-bem-mais-antiga-que-penicilina
Anticancer agents	Agentes anticancerígenos	Desenvolvimento de Novos Agentes Anticancerígenos: Derivados Fenólicos de Origem Natural ou Sintética – Relações Estrutura-Atividade	http://www.ci.uc.pt/qfm/proj10.html
Anticarcinogenic activities	Atividades anticarcinogénicas	Atividade anticarcinogénica: devido à sua atividade antioxidante assim como à sua atividade imunomoduladora. Regula positivamente a apoptose em células tumorais in vitro, aumenta a atividade fagocitária dos macrófagos e protege o DNA de danos oxidativos.	http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0607/selenio/funcbio.html
Antihypertensive effect	Efeito antihipertensivo	Possível redução no efeito anti-hipertensivo da indapamida	http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=41153&tipo_doc=rcm
Antiinflammatory effect	Efeito antiinflamatório	No entanto, sempre que não haja contraindicações e não seja necessário o efeito anti-inflamatório, é preferível usar como antipiréticos e/ou analgésicos outros fármacos	http://www.infarmed.pt/prontuario/framenavegaarvore.php?id=208
Antimutagenic activities	Atividades antimutagénicas	O “Estudo comparativo da atividade antibacteriana, antioxidante e antimutagénica produzida por diferentes extratos de Agrimonia eupatoria L.” venceu ...	http://www.rcmpharma.com/atualidade/id/23-09-11/estudantes-portugueses-em-concurso-com-projetos-de-investigacao-na-area-da
Antioxidant	Antioxidante	A não ser que tenhamos antioxidantes em quantidade suficiente para conseguirem intercalar e neutralizar o excesso de radicais livres no corpo, as membranas e o material genético das nossas células é danificado.	http://www.pharmanord.pt/contentServlet/bioativo_antioxidante.htm
Antioxidant mechanisms	Mecanismos antioxidantes	Essa capacidade antioxidante depende não só do papel específico de cada um dos mecanismos antioxidantes, enzimáticos e não enzimáticos, como	http://www.scielo.oces.mctes.pt/pdf/rpcd/v7n2/v7n2

		também da cooperação entre os mesmos.	a14.pdf
Antiproliferative activities	Atividades antiproliferativas	Estes compostos foram avaliados em termos da sua atividade inibitória contra HDAC8 e DHFR e da sua atividade antiproliferativa.	https://fenix.ist.utl.pt/publico/showDegreeTheses.do?sessionId=1C854F528150D57429909F7A01694032.as2?method=showThesisDetails&degreeID=279&thesisID=60216&contentContextPath_PATH=/cursos/mq/dissertacoes&request_checksum=bf47ca16f69a6d99fbd0d883bf3471463e646acd
Aronia melanocarpa	Aronia	O chokeberry (Aronia) são duas das três espécies de arbustos de folha caduca da família Rosaceae, nativo do leste da América do Norte .	http://dicionario24.info/Aronia
Berry bioactive compounds	Compostos bioativos das bagas	Compostos bioativos das bagas podem reduzir a tensão alta.	http://www.musculacao-pt.net/?p=2000
Berry compounds	Componentes das bagas	“Descobrimos que os componentes das bagas reforçam a capacidade do corpo para derrotar os agentes cancerígenos”, explica o investigador Dr. Gary Stoner, da Universidade Estatal de Ohio (E.U.A).	http://framboesavermelha.blogspot.com/2011/01/o-poder-vermelho.html
Berry consumption	Consumo de bagas	No outono e no inverno, nas regiões mediterrâneas, o regime alimentar é essencialmente vegetal e caracteriza-se pelo consumo de bagas e de frutos tais como bagas de pilriteiro...	https://ria.ua.pt/bitstream/10773/791/1/2009000433.pdf
Bioactive phytochemicals	Fitoquímicos bioativos	Foi avaliada a atividade antioxidante nos extratos brutos (inibição do radical DPPH e dosagem de MDA) e desenvolvido um produto lácteo contendo os fitoquímicos bioativos dos extratos das especiarias, que foi avaliado sensorialmente.	http://www.rcaap.pt/detail.jsp?id=urn:repox:ibict.brall:oai:uel.br:vtls000120370
Biomedicine	Biomedicina	Ciência que estuda a aplicação dos princípios da biologia, da bioquímica e de outras áreas das ciências naturais à medicina	http://www.infopedia.pt/lingua-portuguesa/biomedicina
Biotechnology	Biotecnologia	Conjunto de técnicas que têm por objetivo realizar transformações no domínio da química, da	http://www.infopedia.pt/lingua-portuguesa/biotecnologia

		farmácia e da indústria agroalimentar, pela acção de microrganismos	
Black raspberry	Framboesa negra	O teor total de antocianinas na amora é mais elevado do que na framboesa vermelha e, geralmente, mais baixo que na framboesa negra; contudo este teor varia com os genótipos, tamanho dos frutos e maturação, entre outros fatores.	http://www.inrb.pt/fotos/editor2/inia/manuais/7_amora_qualidade_pos_colheita.pdf
Blackcurrant	Cassis/groselha negra	São as folhas da Groselheira Negra que apresentam grande interesse em fitoterapia, graças à sua riqueza em flavonoides com propriedades anti-inflamatórias.	http://www.econutraceuticos.eu/index.php?option=com_content&view=article&id=275
Blood cells	Células sanguíneas	Os tipos principais de células sanguíneas são os glóbulos vermelhos, as plaquetas e os glóbulos brancos, e a sua baixa contagem pode originar diversas situações.	http://www.roche.pt/sites-tematicos/linfomas/index.cfm/tratamentos/controlo-sintomas/baixo-numero-cel-sanguineas/
Blood pressure	Tensão sanguínea	Perindopril Ripax Comprimidos é usado: para tratar a tensão sanguínea elevada (hipertensão)	http://www.infarmed.pt/infarmed/download_ficheiro.php?med_id=49779&tipo_doc=fi
Blueberries	Mirtilo	O mirtilo é um fruto silvestre com um sabor distinto, vastamente conhecido pelas suas propriedades medicinais. É um poderoso antioxidante e é conhecido por muitos como "o fruto da juventude".	http://www.feiradomirtilo.pt/pt/mirtilo
Body weight	Peso corporal	Peso corporal e comorbilidade são indicadores da mortalidade em doentes com DPOC sob oxigenioterapia	http://www.scielo.oces.mctes.pt/scielo.php?pid=S0873-21592007000100014&script=sci_arttext
Brachial artery	Artéria braquial	De seguida, palpa essa zona até detetar a pulsação da artéria braquial e coloca o diafragma do estetoscópio sobre a circulação do vaso, ajustando os auriculares aos ouvidos para poder auscultar os sons produzidos pelo fluxo de sangue na artéria.	http://www.medipedia.pt/home/home.php?module=artigoEnc&id=127
Caffeic acid	Ácido caféico	Interessámo-nos pelos constituintes da fração hidrolizada (ácido gálico, ácido elágico, catequina, epicatequina, ácido cafeico, ácido p-cumárico e ácido ferúlico) que foram separados e identificados por DAD-HPLC ² , com base nos seus tempos de	http://www.scielo.oces.mctes.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0870-63522001000200002&lng=

		retenção e dados espectrais.	pt&nrm=iso&tlng=pt
Caloric restriction	Restrição caloric	As formas de tratamento normalmente mais utilizadas são duas: um plano alimentar com restrição calórica, combinado com uma atividade física adequada ou o plano alimentar com restrição calórica e a atividade física, combinadas com terapêutica com medicamentos.	http://www.roche.pt/emagrecer/excessodepeso/tratamento.cfm
Cancer cells	Células cancerígenas	As células cancerígenas podem "viajar" para outros órgãos, através do sistema linfático ou da corrente sanguínea	http://www.roche.pt/sites-tematicos/infocancro/index.cfm/nocoas
Capillary electrophoresis	Eletroforese capilar	A eletroforese capilar é uma técnica separativa muito sensível, que foi desenvolvida com base nos conhecimentos adquiridos com a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).	http://w3.ualg.pt/~jpinhei/QAII/Eletroforese%20Capilar.pdf
Cardiometabolic risk	Risco cardiometabólico	...dois ou mais fatores de risco cardiometabólico. Este risco propicia problemas cardiovasculares originados pela hipertensão arterial, diabetes e Síndrome Metabólica, entre outras, comprometendo assim a qualidade e a expectativa de vida.	http://sigarra.up.pt/fmup/noticias_geral.ver_noticia?p_nr=1429
Cardioprotective effects	Efeitos cardioprotectores	Ênfase especial é dada aos fármacos e técnicas anestésicas, como anestésicos halogenados, opióides e fármacos adjuvantes, pois estes têm mostrado efeitos cardioprotetores em cirurgia cardíaca.	http://www.rcaap.pt/detail.jsp?id=urn:reporx.ibict.brall:oai:scielo:S0034-70942005000500012
Cardiovascular disease	Doença cardiovascular	As doenças cardiovasculares são responsáveis por cerca de 40% dos óbitos em Portugal.	http://www.min-saude.pt/portal/conteudos/enciclopedia+da+saude/doencas/doencas+do+aparelho+circulatorio/doencascardiovasculares.htm
Cardiovascular disease risk	Risco de doença cardiovascular	O tabagismo é um fator de risco para doenças cardiovasculares mais elevado nas mulheres do que nos homens.	http://www.dn.pt/inicio/ciencia/interior.aspx?content_id=1950636&seccao=Sa%FAde
Cardiovascular health	Saúde cardiovascular	Noites mal dormidas afetam aspetos da nossa saúde tão diversos como função imunológica, crescimento, aprendizagem, peso, e saúde cardiovascular.	http://www.sistemacardiovascular.com/artigos/ouso-no-e-a-saude-cardiovascular/
Cardiovascular risk factors	Fatores de risco	Existem dois tipos de fatores de risco cardiovascular, nomeadamente um conjunto de fatores individuais	http://www.roche.pt/portugal/index.cfm/produtos/eq

	cardiovascular	sobre os quais se pode influir e modificar e um conjunto de fatores não-modificáveis, que também podem contribuir significativamente para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares.	uipamentos-de-diagnostico/informacao-diagnostico/siscardiovascular/risco/
Cell culture	Cultura de células	Cultura celular ou cultura de células é o processo pelo qual células procariotas ou eucariotas são desenvolvidas sob condições controladas.	http://dicionario24.info/Cultura_celular
Cell membrane	Membrana celular	É constituída por uma dupla camada fosfolipídica. As porções polares dos fosfolípidos contactam o solvente aquoso e as suas longas porções hidrofóbicas situam-se no interior da membrana, longe da água.	http://www2.ufp.pt/~pedros/bqenf2001/apontamentos.htm#mc
Chemopreventive agent	Agente quimiopreventivo	“Estes resultados abrem a possibilidade de considerar o azeite extra virgem um agente quimiopreventivo para a úlcera péptica ou para o cancro do estômago; mas esta bioatividade deve ser confirmada in vivo no futuro”, afirmou o investigador principal Concepcion Romero.	http://www.apdietistas.pt/noticias/azeite_cancro_ulceras.html
Chemotherapeutic	Agente Quimioterapêutico	Os agentes quimioterapêuticos podem ser moléculas produzidas por microrganismos ou plantas com efeito contra outros microrganismos (antibióticos) ou podem ser moléculas com as mesmas propriedades mas sintetizadas quimicamente (agentes sintéticos)	http://www.escola.pt/topico.asp?id=369
Cherry extracts	Extratos de cereja	Avaliar o potencial antioxidante dos extratos de cereja, à colheita e depois da conservação.	http://repositorio.utad.pt/handle/10348/43
Chlorogenic acid	Ácido clorogénico	É considerado pelos pesquisadores como um antioxidante de primeira linha, ou seja, impede o desenvolvimento das células cancerígenas.	http://saude-bemestar.info/substancias-trofoterapicas-alimentos/
Cholesterol levels	Níveis de colesterol	O fígado é responsável pela regulação dos níveis de colesterol que, por si só, não só não é mau, como é indispensável ao bom funcionamento do organismo.	http://idademaior.sapo.pt/bem-estar/saude/2-em-cada3-portugueses-tem-colesterol-alto/
Chromatogram	Cromatograma	QUÍMICA método de separação química de mistura que fundamenta na distribuição seletiva dos seus constituintes entre uma fase móvel e uma fase estacionária, podendo	http://www.infopedia.pt/pesquisa-global/cromatograma

		mistura estar numa ou na outra destas fases, conforme o caso	
Chromatographic profile	Perfil cromatográfico	Esta técnica baseada na microextração em fase sólida, em modo de espaço de cabeça acoplada à cromatografia de gás- espectrometria de massa seguida da análise de componentes principais (HS-SPME-GC-MS-PCA), permitiu avaliar a assinatura global volátil do espaço de cabeça do vinho (perfil cromatográfico e padrões de fragmentação m/z para cada varrimento) sem uma completa separação cromatográfica dos seus componentes.	http://biblioteca.sinbad.ua.pt/teses/2008001103
Cognitive function	Função cognitive	Investigação realizada em crianças e adultos com lesões focais do cerebelo, revelou uma constelação característica de défices, afetando funções executivas, visuo-espaciais, de linguagem e comportamentais, permitindo discriminar com maior precisão a função cognitiva de áreas determinadas do cerebelo.	http://www.actamedicaportuguesa.com/pdf/2006-19/3/257-268.pdf
Colon cancer	Cancro do colon	O cancro do cólon e do reto é, em Portugal, o cancro mais frequente nos homens.	http://www.min-saude.pt/portal/conteudos/enciclopedia+da+saude/doencas/cancro/cancro+colon.htm
Coronary heart disease	Doença coronária	A doença coronária é uma das principais causas de morte nos países desenvolvidos, sendo uma típica "doença da civilização" que todos os anos mata milhares de pessoas...	http://www.medipedia.pt/home/home.php?module=artigoEnc&id=110
Degenerative diseases	Doenças degenerativas	Descoberto mecanismo celular implicado em doenças degenerativas	http://www.cienciahoje.pt/index.php?oid=48542&op=all
Resveratrol	Resveratrol	O resveratrol (3,5,4' – tri-hidroxiestilbeno) é uma fitoalexina, produzida pela videira como resposta à infeção fúngica ou ao stress abiótico.	http://www.scielo.oces.mctes.pt/scielo.php?pid=S0254-02232003000200003&script=sci_arttext
Elderberry	Extrato de	Pacientes com gripe têm se recuperado em 2 a 3 dias	http://www.i-

extract	bagas de sabugueiro	tratados com cerca de 90% do 122 onsequê da baga de sabugueiro.	saude.info/sabugueiro
Ellagic acid	Ácido elágico	Os estudos disponíveis mostram que este fitoquímico impede a ativação de determinadas substâncias cancerígenas: ao evitar a reação destas substâncias com o nosso ADN, o ácido elágico impede assim a indução de mutações que desencadeiam o aparecimento do cancro.	http://www.stopcancerportugal.com/2010/04/23/os-morangos-ja-chegaram/
Ellagitannins	Ellagitaninos	Os seus principais constituintes são os taninos (galhotaninos e elagitaninos), ácidos orgânicos, flavonoides, vitamina C e sais minerais.	http://www.dietmed.pt/index_botanico.asp?id_ind=148
Endogenous antioxidant	Antioxidante endógeno	O potencial anticarcinogénico da Q e do AU no fígado parece ser devido a diferentes mecanismos: prevenção dos danos no DNA através da modulação do sistema antioxidante endógeno, das enzimas envolvidas no metabolismo dos xenobióticos e reparação dos danos através da modulação do sistema de reparação e inibição da proliferação celular	http://biblioteca.sinbad.ua.pt/teses/2007001070
Epidemiologic data	Dados epidemiológicos	A colheita de dados epidemiológicos sobre a infeção pelo VIH/SIDA constitui um pilar fundamental para a formulação e implementação de estratégias de prevenção e controle da doença.	http://www.aidsportugal.com/Modules/WebC_AIDS/Articles/ViewArticles.aspx?Mid=177&Aid=1047
Esophageal cancer	Cancro do esófago	Dado que o cancro do esófago tem tendência para obstruir a passagem dos alimentos, o primeiro sintoma é a dificuldade em ingerir sólidos	http://www.manualmerck.net/?id=139&cn=543
Estrogen receptor	Recetor de estrogénio	No entanto, ratos do sexo feminino em falta do recetor de estrogénio alfa, molécula que envia sinais da hormona para os neurónios, em determinadas partes do cérebro tornaram-se obesos e desenvolveram doenças como diabetes e doenças cardíacas.	http://www.pop.eu.com/news/5716/26/Hormona-sexual-regula-peso-corporal-apetite-e-gasto-energetico-nas-mulheres.html
Exogenous antioxidants	Antioxidantes exógenos	No interior da célula, a eliminação dos compostos reativos, efetuada quer por antioxidantes exógenos, quer endógenos, constitui um pré requisito...	http://www.scielo.oces.mctes.pt/pdf/rpcd/v7n2/v7n2a14.pdf
Fatty acid	Ácidos gordos	Os ácidos gordos são ácidos carboxílicos monobásicos, de fórmula geral $C_nH_{2n+1}COOH$, que fazem parte da constituição das gorduras.	http://www.infopedia.pt/\$acidos-gordos
Fecal fat	Gordura fecal	Esses efeitos contribuíram para o aumento da	http://www.rcaap.pt/detail

		excreção de gordura fecal, tendo como consequência direta a redução do teor de colesterol plasmático	http://www.repos.ibict.br/bril:oi:unicamp.br:000076147
Flavonoids	Flavonoides	Os flavonoides são compostos químicos com propriedades nutricionais, que se encontram numa grande variedade de plantas, incluindo frutos e legumes.	http://www.xango.com.pt/science/flavonoids
Fluorometric assay	Ensaio fluorimétrico	Este trabalho teve como objetivo o estabelecimento de um ensaio fluorimétrico para a medição rápida e em larga escala, da sobrevivência/morte intracelular de Mycobacterium spp., incluindo M. tuberculosis, em macrófagos, utilizando repórteres fluorescentes distintos para as bactérias e macrófagos.	http://www.rcaap.pt/detail.jsp?locale=pt&id=oi:repositorio.ul.pt:10451/3057
Free radicals	Radicais livres	Os radicais livres procuram eletrões para que se possam emparelhar a nível atómico, e ao fazê-lo atacam as células do nosso corpo, roubando eletrões de qualquer substância com que entrem em contacto	http://www.mangostao.pt/radicais.html
Fungal infections	Infeções fúngicas	Dai que as infeções fúngicas comecem geralmente nos pulmões ou na pele.	http://www.biovip.pt/saude/-/infeccoes-fungicas109/
Gallic acids	Ácidos gálicos	A quantificação de espécies electroactivas foi obtida em termos de equivalentes de ácido gálico e ácido ascórbico.	http://www.fc.up.pt/fcup/contactos/teses/t_050370112.pdf
Gastric cancer	Cancro do estômago	A investigação constante, numa área de intervenção tão importante como o cancro do estômago é, inquestionavelmente, necessária; cada vez se sabe mais sobre as suas causas, sobre a forma como se desenvolve e cresce, ou seja, como progride.	http://www.roche.pt/sites-tematicos/infocancro/index.cfm/tipos/cancro-do-estomago/?qclid=ClutjPDluKwCFRSCfAodNFOPHw
Gastric mucosa	Mucosa gástrica	A mucosa gástrica ectópica pode encontrar-se em qualquer segmento do tubo digestivo, na vesícula ou vias biliares	http://www.scielo.oces.mctes.pt/pdf/ge/v17n5/v17n5a04.pdf
Genotoxic effects	Efeitos genotóxicos	O etanol evidenciou um efeito genotóxico nas três concentrações mais elevadas em estudo (1,25 %; 2,5 % e 5 %). Os danos foram superiores para a concentração de 5 % de etanol. Por outro lado, a concentração de etanol de 0,625 % não se mostrou genotóxica.	http://www.scielo.oces.mctes.pt/scielo.php?pid=S0870-90252010000200011&script=sci_arttext
Glucose levels	Níveis de glucose	A partir de uma amostra de sangue total capilar colocada na tira de teste descartável, a medição dos níveis de Colesterol e de Triglicéridos tornou-se tão fácil como a medição dos níveis de	http://www.roche.pt/portugal/index.cfm/produtos/equipamentos-

		glucose.	de-diagnostico/products/near-patient-testing/accutrend-plus/
Glycemic control	Controlo glicémico	Controlo glicémico e tratamento da diabetes tipo 1 da criança e a adolescente em Portugal.	http://www.actamedicaportuguesa.com/pdf/2004-17/2/173-179.pdf
Glycosidic derivatives	Derivados glicosídicos	As antocianinas mais comuns são 6 e raramente se encontram nas plantas uma vez que a forma abundante são os seus derivados glicosídicos, as antocianinas	http://www2.dq.fct.unl.pt/cadeiras/qpn1/molweb/2004/antocianinas/estrutura.htm
Goji berries	Bagas goji	As bagas gojis (lycium barbarum) são umas bagas vermelhas e doces, que lembram uma combinação entre passas de uva e cerejas.	http://www.bagasgoji.com/Page-21-O+que+s%E3o+Gojis.html
Grapeseed extract	Extrato de semente de uva	Extrato de semente de uva com uva inteira tem mais atividade antioxidante do que somente semente de uva, e é uma das fontes mais ricas de proantocianidinas, antioxidantes que podem limitar os danos cometidos pelos radicais livres e ajudar a manter as paredes arteriais flexíveis, uma parte importante do bem estar do sistema circulatório.	http://www.nutrivea-po.com/extrato_de_semente_de_uva.htm
HDL cholesterol	Colesterol HDL	Idealmente, os valores do colesterol LDL devem ser inferiores a 130 mg/dl, enquanto os valores do colesterol HDL devem ser superiores a 40 mg/dl.	http://www.manualmerck.net/?id=165
Heart attack	Ataque cardíaco	Mas os cientistas chegaram à conclusão de que a via que leva ao ataque cardíaco não é uma linha reta a partir dos alimentos gordos - não é simplesmente um problema de tubos entupidos com gordura.	http://www.seleccoes.pt/ataque_card%C3%ADaco_novas_formas_de_o_evitar/
Heart disease	Doença cardíaca	A tomografia axial computadorizada vulgar (TAC) quase nunca se utiliza para diagnosticar uma doença cardíaca; no entanto, podem detetar-se anomalias estruturais do coração, do pericárdio, dos vasos principais, dos pulmões e das estruturas de suporte	http://www.manualmerck.net/?id=41&cn=610

		dentro do tórax. O computador do sistema cria imagens transversais de todo o tórax utilizando os raios X e mostra a localização exata das anomalias.	
Heart failure	Insuficiência cardíaca	A insuficiência cardíaca (insuficiência cardíaca congestiva) é uma doença grave em que a quantidade de sangue que o coração bombeia por minuto (débito cardíaco) é insuficiente para satisfazer as necessidades de oxigénio e de nutrientes do organismo.	http://www.manualmerck.net/?id=43
Helicobacter pylori adhesion	Adesão de helicobacter pylori	E que consequências têm essas alterações na adesão/infeção por Helicobacter pylori?	http://users.med.up.pt/cc04-10/biopatseminario/16_Es ofEstom.pdf
Hematologic tests	Testes hematológicos	Se, por razões de força maior, o metronidazol tiver de ser administrado durante mais tempo do que o recomendado habitualmente, preconiza-se a realização regular de testes hematológicos, em especial contagem leucocitária, e os doentes deverão ser vigiados relativamente a reações adversas indicadoras de eventuais neuropatias centrais ou periféricas (como sejam parestesias, ataxia, tonturas, ataques convulsivos).	http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=3424&tipo_doc=fi
Hidroxicinnamic acids	Ácidos hidroxicinâmicos	A composição química da parede celular da palha de trigo, em cada um dos intervalos de tempo previamente mencionados, foi analisada medindo a concentração de lenhina e de ácidos hidroxicinâmicos esterificados	http://www.rcaap.pt/detail.jsp?id=oai:repositorio.utad.pt:10348/443
High cardiovascular risk	Elevado risco cardiovascular	Raça negra, baixa escolaridade e baixo nível socioeconómico são descritos como de elevado risco cardiovascular na literatura internacional (2, 4).	http://www.scielosp.org/pdf/rpsp/v16n2/22248.pdf
High-molecular weight	Elevado peso molecular	Tem elevado peso molecular, é amorfa e saturada e, por ser saturada, só pode ser vulcanizada com peróxidos orgânicos	http://www.rubberpedia.com/borrachas/borracha-epdm.php
Histopathology	Histopatologia	Nesta perspetiva, a biomonitorização ambiental recorrendo a biomarcadores histológicos, como é o caso do estudo da histopatologia hepática, tem assumido uma importância crescente.	http://repositorio.utad.pt/handle/10348/220
HIV/AIDS treatment	Tratamento de VIH/SIDA	Este encontro culmina numa altura em que as provas de que o tratamento do VIH/SIDA pode prevenir	http://saude.sapo.pt/noticias/saude-

		novas infecções são cada vez mais evidentes.	medicina/medicosyemyfronteirasycriticamynao-compromissoydo syeuayeyinglater raynoytratament oydo yvih-sida.html
Hydrogen peroxide	Peróxido de hidrogénio	O peróxido de hidrogénio é um elemento-chave na química da água e do ozono na atmosfera do nosso planeta	http://www.cienciahoje.pt/index.php?oid=50110&op=all
Immune system	Sistema imunitário	O sistema imunitário é um conjunto de órgãos tecidos e células capaz de reconhecer os elementos próprios e estranhos aos organismo e de desenvolver ações que protegem o organismo de agentes patogénicos e das células cancerosas	http://www.biologia-ap.no.comunidades.net/index.php?pagina=1079463409
Incidence of hypertension	Incidência de hipertensão	Na coorte dos descendentes de Framingham foi observado que o aumento da incidência de hipertensão arterial é diretamente proporcional ao aumento da massa corporal 20.	http://www.scielo.br/pdf/%0D/abc/v84n1/23002.pdf
Inflammatory markers	Marcadores inflamatórios	A determinação dos níveis circulantes de marcadores inflamatórios (proteína C reativa de alta sensibilidade, ceruloplasmina, e haptoglobina) será feita por nefelometria enquanto a quantificação de citocinas pró-inflamatórias (IL6, TNF α , IL8) será estudado por através de ensaios imunoenzimáticos.	http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/ID/Paginas/MarcadoresinflamatoriosHF.aspx
Inflammatory processes	Processos inflamatórios	Os processos inflamatórios, isto é, a inflamação, é um conjunto de alterações que têm um universo próprio, mas que não é independente dos restantes; quero com isto dizer que há muitas vezes sobreposição de processos inflamatórios a processos de outra natureza, sejam eles degenerativos ou neoplásicos.	http://users.med.up.pt/cc04-10/biopatteoricas/Aula3_InflamacaoAguda.pdf
Influenza virus	Vírus da gripe	Visa estudar a resposta social ao processo pandémico associado ao novo vírus da Gripe A(H1N1)v, relatar periodicamente os resultados da resposta social à Direção-Geral da Saúde e, através desta, ao conjunto da sociedade, procurando, desta forma, influenciar a qualidade da resposta social à pandemia de gripe.	http://www.min-saude.pt/portal/conteudos/enciclopedia+da+saude/saude+publica/gripe/virus+h1h1.htm
Insulin resistance	Resistência a insulina	A obesidade é caracterizada pela presença de resistência à insulina e hiperinsulinemia e constitui em fator de risco para outras doenças, tais como	http://www.rcaap.pt/detail.jsp?id=urn:repox.ibict.brall:oai:unicamp.br:vtls000444

		hipertensão arterial, diabetes mellitus, hiperlipidemia (Ashley 1974; Mokdad 2003)	344
Intercellular communication	Comunicação intercelular	Uma outra área de interesse do nosso grupo é o efeito da lesão oxidativa na comunicação intercelular e o papel da ubiquitina na regulação deste processo	http://www.uc.pt/fmuc/centrooftalmologia/Investigacao/BiologiaEnvelhecimento
Intestinal absorption	Absorção intestinal	Absorção intestinal - É a fase que se segue à digestão e durante a qual ocorre a passagem dos produtos digeridos para o sangue e para a linfa através da mucosa intestinal.	http://www.infopedia.pt/\$absorcao-(biologia)
Intestinal epithelial	Epiteliais intestinais	Mecanismos de lesão da bactéria ECAI nas células epiteliais intestinais	http://www.fcsaude.ubi.pt/thesis/upload/118/786/iolanda_ribeiro.pdf
Intracellular antioxidant	Antioxidante intracelular	. Os mecanismos de defesa antioxidante nos diferentes tecidos compreendem sistemas enzimáticos e não enzimáticos(48) e podem ser classificados em função do seu mecanismo de ação predominante (antioxidantes de prevenção, de interceção e de reparação), da sua localização orgânica (antioxidantes intracelulares e extracelulares) e da sua proveniência, seja da dieta (antioxidantes exógenos), seja da síntese endógena (antioxidantes endógenos) (Tabela 1).	http://www.scielo.oces.mctes.pt/pdf/rpcd/v7n2/v7n2a14.pdf
LDL cholesterol	Colesterol LDL	O colesterol LDL representa a fração de colesterol ligado às lipoproteínas plasmáticas de baixa densidade (LDL- Low density lipoprotein). Define-se como mau colesterol, uma vez que as lipoproteínas plasmáticas de baixa densidade transportam o colesterol do fígado para a corrente sanguínea, favorecendo a sua acumulação nos órgãos e tecidos	http://www.farmacibordalo.pt/Servi%C3%A7os/ColesterolHDLLeLDL/tabid/93/Default.aspx
LDL oxidation	Oxidação da LDL	Em conclusão, ambas as oximas foram efetivas em proteger a LDL da oxidação. Esta proteção pode contribuir para evitar a oxidação de LDL in vivo e possivelmente a aterogénese.	http://www.rcaap.pt/detail.jsp?id=urn:repositorio:ibict.br:2229
Leukemia	Leucemia	Suspeita-se que o vírus HTLV-I (vírus linfotrófico da célula T humana tipo I), que é semelhante ao vírus que provoca a SIDA, pode ser a causa de um tipo raro de leucemia nos humanos, chamada leucemia de célula T do adulto.	http://www.manualmerck.net/?id=183
Lung cancer	Cancro do	O cancro do pulmão aumentou nas mulheres devido ao costume mais difundido de fumar cigarros.	http://www.manualmerck.net/?id=183

	pulmão	Quanto mais cigarros se fumam, maior é o risco de se contrair o cancro do pulmão.	net/?id=71
Malignant neoplasms	Neoplasmas malignos	Tensão mamária ou mastalgia. Neoplasmas malignos e benignos estrogênio-dependentes. Tromboembolismo venoso.	http://www.saude24.net/index.php/farmacia-online/medicamentos-online/121-medicamentos-para-alteracoes-e-doencas-vaginais/4485-bula-do-ovestin
Maximum plasma concentration	Concentração plasmática máxima	Da concentração plasmática de sertralina versus curva do tempo os seguintes parâmetros farmacocinéticos foram obtidos: área sob a curva da concentração plasmática em função do tempo (AUC[0-96]) e área sobre a curva da concentração plasmática extrapolada para o infinito (AUC[0-∞]), concentração plasmática máxima obtida (C _{max}), concentração plasmática máxima obtida sobre a área sob curva da concentração plasmática em função do tempo (C _{max} /AUC[0-96]), tempo empregado para que seja alcançada a concentração plasmática máxima (T _{max})	http://www.rcaap.pt/detail.jsp?id=urn:repositorio:ibict.br:vtls000188:0ai:unicamp.br:vtls000188271
Mediterranean dietary	Dieta mediterrânica	Os segredos da dieta mediterrânica Nos últimos anos, as características próprias da dieta mediterrânica têm-se vindo a perder, vá-se lá saber porquê... Talvez porque fazem bem e porque se prefere os atropelos do fast food e os arremessos do stress.	http://www.infopedia.pt/\$os-segredos-da-dieta-mediterranica
Metabolic parameters	Parâmetros metabólicos	Equipamento topo de gama, para a determinação de parâmetros metabólicos e associados.	http://pulmocar.pt/site/funcao-respiratoria-e-cardiopulmonar/provas-de-esforco-cardiopulmonar/
Methanolic extract	Extrato metanólico	As infusões de Hiperício-do-Gerês e de Cardo-do-Coelho apresentam uma composição idêntica à do extrato metanólico respetivo.	http://sigarra.up.pt/ffup/web_base.gera_pagina?p_pagina=2308
Microbial effects	Efeitos microbianos	Esta acrescida redução dos microrganismos, que não pode ser menosprezada, caracteriza, decididamente, o carbamato como um ajudante de agregação e sugere que o uso dos convencionais ajudantes de retenção pode ser eficiente no controlo dos efeitos microbianos indesejáveis.	http://repositorium.sdum.uminho.pt/handle/1822/189

Necropsy	Necropsia	s. f. (fr. nécropsie). Sin. de autópsia. (adj.: necrópsico.)	http://medicosdeportugal.sapo.pt/glossario/necropsia
Neochlorogenic acid	Ácido neoclorogénico	São poucos os frutos que nos presenteiam com um leque tão variado de cores com as doces e suculentas ameixas. Tanto a ameixa fresca como seca (<i>Prunus Domestica</i>) têm sido sujeitas a inúmeras pesquisas devido ao seu alto teor de fito nutrientes únicos conhecidos como ácido neoclorogénico e ácido clorogénico	http://www.guiadanutricao.com/2011/08/ameixa-in-natura-ou-em-farinha.html
Neurodegenerative disorders	Distúrbios neurodegenerativos	A interrupção desse ritmo de atividade pode afetar a saúde e está relacionado com várias doenças, tais como, insónias, depressão, problemas cardíacos, cancro e outros distúrbios neurodegenerativos.	http://www.clinicacg.com/noticias/cientistas_identificam_mecanismo_que_aciona_relogio_biologico
Obesity risk	Risco de obesidade	Os pais exageram no controlo da atividade dos filhos – por exemplo, impedindo algumas brincadeiras por achar exageradas ou perigosas – podem estar a abrir caminho a um maior risco de obesidade	http://www.paisefilhos.pt/index.php/criancas/dos-6-aos10-anos-menu-criancas64/3843-lpais-helicopteror-aumentam-risco-de-obesidade-infantil
Oxygen radical absorbance	Absorção de radicais de oxigénio	O Açaí contém inúmeras fibras – tem cerca de 14 gramas de fibras por 100 gramas de Açaí. É altamente rico em ORAC. O ORAC (Oxygen Radical Absorption Capacity- Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigénio) é uma unidade de medida que atribui a capacidade de absorção de radicais livres.	http://www.serdanatureza.com/produtos-grande.php?referencia=17a4805
Pharmacokinetic properties	Propriedades farmacocinéticas	Alimentos: A administração de Ibuprofeno juntamente com alimentos atrasa a velocidade de absorção (ver 5.2. Propriedades farmacocinéticas).	http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=35309&tipo_doc=rcm
Phytochemicals	Fitoquímicos	Os fitoquímicos são químicos protetores encontrados apenas nas plantas. De facto, todos os alimentos de origem vegetal – as frutas, os vegetais, as leguminosas, os cereais, as sementes, as oleaginosas, e até as ervas aromáticas – têm fitoquímicos; milhares deles.	http://medicinapreventiva.pt/index.php?option=com_content&task=view&id=51&Itemid=2
Plasma antioxidant capacity	Capacidade antioxidante do plasma	Verificou-se que a capacidade antioxidante do plasma aumentou significativamente no caso do molho de maçã e da polpa de açaí.	http://www.biollogicus.com/Ficha.aspx?prod=1969

Pomegranate	Romã	O estudo realizado em ratos enfatiza a propriedade medicinal do sumo de romã em vez da semente.	http://www.cienciahoje.pt/index.php?oid=43200&op=all
Postprandial	Pós-prandial	Daí a necessidade, até porque nós estamos muito mais tempo, ao longo do dia, em situação pós-prandial, de saber como se comportam os triglicerídeos algumas horas depois de uma refeição.	http://www.medipedia.pt/home/home.php?module=artigo&id=76
Ribes	Groselhas	Estudo concluiu que um composto presente na groselha preta consegue reduzir a inflamação induzida do pulmão, ao reforçar os mecanismos de defesa naturais do tecido pulmonar.	http://fitness.clix.pt/22457/asma:-groselha-favorece-respiracao.htm
Rubus	Framboesas	É uma fruta rica em carboidratos e fibras (pectina), sendo por isso boa para repor as energias.	http://logon.prozis.pt/tag/framboesa/
Secondary metabolites	Metabolitos secundários	A biossíntese de metabólitos secundários é realizada por rotas metabólicas específicas do organismo, ocorrendo uma estreita relação entre essas rotas e aquelas responsáveis pela síntese de metabólitos primários.	http://pt.scribd.com/doc/22584053/METABOLITOS-SECUNDARIOS
Sirtuin	Sirtuína	O creme de dia antienvhecimento com sirtuína é um cuidado hidratante avançado, especificamente formulado para prevenir e reduzir os sinais de envelhecimento decorrentes das alterações hormonais.	http://www.sweetcare.pt/en-creme-dia-anti-envelhecimento-com-sirtuina-peles-maduras-com-falta-firmeza-p-CM0704RN.aspx
Spectra of pathogens	Espectro de patogénicos	Com imunodeficiência avançada (células CD4 abaixo de 200/ μ l), deve considerar-se prioritariamente um diagnóstico broncoscópico, devido ao largo espectro de patogénicos (Dalhoff 2002).	http://hivmedicine.aidsportugal.com/html/25_Pulmo.html
Systemic inflammation	Inflamação sistémica	Os resultados deste estudo sugerem a possível existência de efeitos benéficos de alimentos de soja ricos em isoflavonas no estado inflamatório e nutricional de doentes em hemodiálise com inflamação sistémica.	http://www.apdietistas.pt/noticias/soja_e_doentes_com_insuficiencia_renal.html
Flavonols quercetin	Flavonoides	A tabela 1 apresenta algumas das principais classes de flavonoides, assim como alguns dos seus principais representantes e características.	http://www.bioteecnologia.com.br/revista/bio17/17_f.pdf
Metabolic syndrome	Síndrome metabólica	De acordo com os resultados do estudo, a prevalência do síndrome metabólico foi reduzida em 13.7% quando a dieta foi suplementada com frutos	http://www.apdietistas.pt/noticias/dieta_mediterranica_sindrome_metabolico.htm

		oleaginosos, em 6.7% quando suplementada com azeite e apenas em 2% no grupo control	ml
Toxic effects	Efeito tóxico	Quando uma substancia nociva é ingerida ou entra em contacto com uma pessoa, é classificada como efeito tóxico.	http://portalcodgdh.min-saude.pt/index.php/Efeitos_adversos,_Envenenamento_e_Efeitos_T%C3%B3xicos
Toxicity	Toxicidade	A toxicidade consiste na capacidade de uma substância química produzir um efeito nocivo quando interage com um organismo vivo. A toxicidade de uma substância depende da dose e/ou do sistema biológico de cada um.	http://www.infopedia.pt/\$toxicidade
Toxicological effects	Efeitos toxicológicos	A persistência da atrazina no ambiente, associado à crescente preocupação no que se refere aos seus efeitos toxicológicos e ecotoxicológicos, tem motivado o estudo e desenvolvimento de estratégias de biorremediação cada vez mais eficientes na remoção das contaminações com o herbicida.	http://www.e-escola.pt/ftema.asp?canal=biologia&id=151
Toxicological study	Estudo toxicológico	Assim, tornase evidente que a aplicação dos Princípios deve ter em atenção as diferenças entre um estudo toxicológico envolvendo ensaios com animais e a natureza mais rotineira dos estudos que envolvem unicamente ensaios físico-químicos.	http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MONITORIZACAO_DO_MERCADO/INSPECCAO/LABORATORIO_CONTROLO_QUALIDADE/prog_nacional.pdf
Transepithelial transport	Transporte transepitelial	Numa primeira fase do projeto, serão estudadas as características da captação e transporte transepitelial de 3H-tiamina e 3H-folato, utilizando três modelos de placenta humana: a linha celular Jar, a linha celular BeWo e culturas primárias de trofoblastos humanos.	http://www.fct.mctes.pt/projetos/pub/2004/painel_result/vglobal_projeto.asp?idProjecto=59382&idElemConcurso=35
Type 2 diabetes	Diabetes tipo 2	Diabetes Tipo 2 (Diabetes Não Insulino-Dependente) - É a mais frequente (90 por cento dos casos).	http://www.min-saude.pt/portal/conteudos/enciclopedia+da+saude/doencas/doencas+cronicas/diabetes.htm
Unsaturated fats	Gorduras insaturadas	Devido às preocupações com o bem-estar, os produtores alimentares esforçam-se por retirar as gorduras insaturadas de muitos dos seus produtos, mas nalguns casos substituíram as gorduras insaturadas por gorduras saturadas – as quais podem, também, aumentar os níveis de colesterol.	http://www.herbalifecontrolodepeso.com.pt/content/sem-gordura-sem-a%C3%A7%C3%BAcar-sem-calorias
Urinary	Excreção	Na sequência desta ação inibitória acumulam-se os	http://www.ensp.unl.pt/dis

excretion	urinária	respetivos substratos, verificando-se uma elevação dos níveis sanguíneos e da excreção urinária de ácido δ -aminolevulínico (ALA-U) e de coproporfirina III (COPRO-U) e dos níveis eritrocitários de protoporfirina IX (PPE)	positivos-de-apoio/cdi/cdi/setor-de-publicacoes/revista/2000-2008/pdfs/1-02-2003.pdf
Urinary tract infections	Infeções do trato urinário	As infeções do trato urinário (ITU) contribuem para mais de 8 milhões de consultas médicas nos Estados Unidos (1997).	http://www.roche.pt/portugal/index.cfm/produtos/equipamentos-de-diagnostico/informacao-diagnostico/trato-urinario/
Uropathogenic	Uropatogénico	Infeções urinárias e suscetibilidade de uropatógenos aos antimicrobianos	https://ria.ua.pt/handle/10773/863
Vascular dysfunction	Disfunção vascular	Apesar de ainda não comprovados, existem algumas propostas de possíveis mecanismos patogénicos, que explicariam a associação do ácido úrico com outros fatores de risco, Disfunção Vascular e Doença Cardiovascular	http://rihuc.huc.min-saude.pt/bitstream/10400.4/441/1/%C3%81cido%20%C3%BArico%20e%20doen%C3%A7a%20cardiovascular.pdf
Visceral adiposity tissue	Tecido Adiposo visceral	A visfatina é produzida primariamente pelo tecido adiposo visceral	
Walnut consumption	Consumo de nozes	Estudo afirma que o consumo de nozes e castanhas pode ajudar a reduzir o colesterol	http://www.coisasinteressantes.com.br/blog/?p=3852

Texto escrito conforme o Acordo Ortográfico - convertido pelo Lince